

Über die Katalase des Blutes

Beitrag zur Methodik der Messung
der Katalasewirkung

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät
der Hessischen Ludwigs-Universität
zu Gießen

vorgelegt von

Rudolf Müller

aus Lank

Gießen 1931

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen
Fakultät zu Gießen.

Referent: Prof. Dr. Koeppe.

Meinen lieben Eltern gewidmet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Quantitative Untersuchungen über den Gehalt des Blutes an Katalase sind zwar von einigen Klinikern schon zu Anfang des 20. Jahrhunderts gemacht worden, haben aber keinen richtigen Eingang gefunden. Erst in der letzten Zeit ist in Kinderkliniken diesem Gegenstand erneut Interesse zugewandt worden. In den Handbüchern wird die Katalase kaum erwähnt, obwohl doch allseits betont wird, daß es sich hier um äußerst wichtige Vorgänge und Erscheinungen des Lebens handeln muß. In einer Arbeit Bingolds ist folgende Stelle aus dem Kapitel: Blut- und Blutkrankheiten von Morawitz erwähnt: „Die Katalase findet sich, allerdings in recht verschiedener Menge, in jedem tierischen und pflanzlichen Gewebe, auch im Blutserum. Die physiologische Bedeutung der Katalase ist noch völlig ungeklärt — und in anderen Lehrbüchern der inneren Medizin oder der Hämatologie findet die Katalase überhaupt keine Erwähnung.“

Der Grund hierfür mag wohl darin zu suchen sein, daß jeder Forscher anfänglich, durch die Schwierigkeiten der Untersuchungstechnik abgeschreckt wird, insofern als durch eine gewisse Unstimmigkeit der Versuchsergebnisse, Zweifel am Wert der Untersuchungen auftreten. In der Tat lassen sich zur Zeit die Resultate verschiedener Forscher, obwohl sie anscheinend nach derselben Methode gearbeitet haben, nicht in Einklang bringen. Deshalb wurde mir die Aufgabe gestellt, an Hand der bisherigen Untersuchungen, die Methode der Katalasemessung bei den verschiedenen Forschern erneut miteinander zu vergleichen und möglichst alle, die Resultate der Katalasemessung beeinflussenden Momente und Faktoren festzustellen und zu prüfen.

Deshalb werden in der Einleitung die Anschauungen über Wesen und Funktion der Katalase nur insoweit erwähnt, als zum Verständnis des Folgenden unbedingt notwendig.

Die Entdeckung, daß Zellen sowohl pflanzlicher wie tierischer Herkunft Stoffe enthalten, durch die sie die Fähigkeit erhalten, H_2O_2 zu zersetzen, machte man vor etwa 100 Jahren. Eine große Anzahl von Tieren aller Gattungen besitzen diese Fähigkeit, und Schoenbein kam zu der Ansicht, daß die H_2O_2 zersetzende Eigenschaft die typische Reaktion aller Fermente sei. Er bezeichnete diesen Vorgang sogar als das Urbild der Gärungen. Berzelius, verglich die H_2O_2 -Zersetzungen durch Platin mit der bei Gärungen und prägte für alle diese Erscheinungen den Namen „Katalyse“. Es entstanden zahlreiche Theorien, die alle die Vorgänge bei der Katalyse zu klären versuchten. Die energetische Auffassung des Katalysiebegriffs durch Ostwald unter Berücksichtigung des Faktors „Zeit“ ist als ein Fortschritt zu bezeichnen. Seine Definition lautet: „Katalyse ist die evtl. auch negative Beschleunigung eines langsam verlaufenden chemischen Vorgangs durch die Gegenwart eines fremden Stoffes.“ C. Oppenhei-

mer wählte unter Zugrundelegung dieses allgemein gültigen waldschen Satzes für die Fermente, die er für etwas unbedingt organisches hält, den Namen: Organische Katalysatoren. In die Sinne wurde die H_2O_2 zersetzende Kraft der Zellen auch als durch einen Katalysator bedingt aufgefaßt. Die Berechtigung hierzu gab die Versuche Bredigs und Müller von Bernecks. Sie fanden weitgehende Ähnlichkeiten zwischen der durch ihr Platinsol bedingten Katalyse von H_2O_2 und der H_2O_2 -Zerlegung durch die Zellen.

Die Schönheimsche Anschauung erwies sich als falsch, denn e um die Jahrhundertwende konnten Jakobson und Loew nachwei daß sich die H_2O_2 zersetzende Kraft eines Ferments vernichten l ohne damit auch gleichzeitig die spezifische Fähigkeit des Ferme zu zerstören. Daraus mußte man schließen, daß die H_2O_2 zersetz Wirkung einer besonderen Form oder Art der Fermente zuzusch ben sei. Loew faßte diese unter dem Namen „Katalase“ zusam

Er isolierte aus Tabakblättern ein Ferment, das ausschließlich die H_2O_2 zersetzende Eigenschaft aufwies. Er glaubt, daß es zwei eigene H_2O_2 spaltende Fermente gibt, eine lösliche α -Katalase und eine in Wasser unlösliche β -Katalase. Das Charakteristikum der Katalase ist die Fähigkeit, H_2O_2 zu zersetzen. Unter Katalase des Blutes verstand also bei Koeppe und Torday zunächst die H_2O_2 zersetzende Kraft des Blutes verstanden.

Die physiologische Bedeutung der Katalase ist noch völlig unklar. Bisher ist es noch nicht gelungen, H_2O_2 einwandfrei im lebenden Organismus nachzuweisen. Man nimmt an, daß jede Spur H_2O_2 , die im Organismus frei wird, sofort durch die Katalase zersetzt wird, da schon ganz geringe Mengen H_2O_2 eine schädliche und zerstörende Wirkung auf das Zellprotoplasma ausüben. Bach und Chocques unterscheiden drei Gruppen von Oxydationsfermenten: erstens die *Oxygenasen*, die molekularen Sauerstoff unter Peroxydbildung aufnehmen; zweitens die *Peroxydasen*, die das so entstandene Peroxyd aktivieren und dadurch aktiven Sauerstoff an die oxydierbaren Stoffe abgeben; und drittens die *Katalasen*, die dann das noch vorhandene Peroxyd, was für die Peroxydasen unangreifbar blieb, zerstören, indem sie es in molekulares inaktives O_2 und H_2 zerlegen. Nach Thomson ist dieser Spaltungsprozeß exothermischer Art.

Bach und Subkow a nehmen an, daß neben der Katalase noch ein Stoff, den sie Protease nennen, wirksam ist. Sie führen Schwächerwerden der Katalasewirkung bei höherer Temperatur die Wirkung der Protease zurück. Die Protease hemmt bzw. zerstört nach ihrer Ansicht die Katalase. Bei A. Bach findet sich folgende Anschauung: „Als das häufigste Umsetzungsprodukt der organischen Peroxyde, die bei der langsamen Verbrennung von leicht oxydierbaren organischen Stoffen entstehen, tritt Hydroperoxyd auf, daß in gewissen Fällen auch primär sich bilden kann. Unter Umständen können sich dieses Hydroperoxyd in der Zelle anhäufen und wegen seiner großen Diffusibilität die empfindlichen Anteile der Zelle schädigen. Um dieser Gefahr zu begegnen, produziert die lebende Zelle ein echtes Schutzferment — die Katalase — die Hydroperoxyd mit größter Energie in Wasser und inaktiven Sauerstoff zerlegt. Hiedurch wird

ert ist aber hier, daß bei Anwesenheit von oxydierbaren Substraten die Verteilung der Hydroperoxyds zwischen Peroxydase und Katalase stattfindet. Die Katalase verhindert also nicht die Verwertung des Hydroperoxyds durch die Peroxydase für Oxydationszwecke, sie funktiert nur als Regulator der Oxydationsprozesse.“ Im übrigen steht der Autor auf Bredigs Standpunkt. „Ein Ferment ist ein im lebenden Organismus vorkommender, an biochemischen Prozessen beteiligter Katalysator, der durch Kochhitze zerstörbar ist.“

Wir kennen also weder Struktur noch die chemische Formel oder vergleichen der Fermente, aber aus der Wirkung können wir das Vorhandensein eines Fermentes nachweisen. Für manche der Fermente ist es auch möglich, ihre spezifische Wirkung zu messen. Die Wirkung der Katalase besteht darin, H_2O_2 in Wasser und molekularen Sauerstoff zu zerlegen. Der Grad der Wirkung der Katalase ist der Maßstab für die jeweilige Katalaseenergie.

Um die Katalasewirkung zu messen, hat man zwei Methoden, die physikalisch-volumetrische und die chemisch-titrimetrische Methode. Bei der ersten ergibt die Menge des durch die Zersetzung entstandenen freien Sauerstoffs unmittelbar die Größe der Zersetzung in ccm O, bei der zweiten gibt die Differenz zwischen der ursprünglich zugesetzten Menge H_2O_2 und der titrierten die Größe der Zersetzung in mg H_2O_2 an. Die Umrechnung des bei der volumetrischen Methode entstandenen Sauerstoff in mg H_2O_2 erfolgt durch Multiplikation der jeweilig entstandenen Gasmenge mit dem Faktor 3,03. Dieser Faktor ergibt sich aus folgender Berechnung.

Das Mercksche Perhydrol enthält 30 Gewichtsprozent Wasserstoffsuperoxyd und wird als „100 Volumen Sauerstoff“ bezeichnet. Der letzte Name soll zum Ausdruck bringen, daß aus solchem Wasserstoffsuperoxyd das 100fache seines Volumens an Sauerstoff in Freiheit gesetzt werden kann. Demnach enthält

10 gr Perhydrol (30% H_2O_2 lös.) .. 30 gr H_2O_2 liefert 10 000 ccm O bei 0° und 760 ccm Druck
 1 gr Perhydrol (30% H_2O_2 lös.) 0° und 760 ccm Druck
 1 gr + 29 aq. dest. = (1% H_2O_2 lös.) 0,3 gr H_2O_2 liefert 100 ccm O
 1 gr (1% H_2O_2 lös.) 0,01 = 10 mg H_2O_2 liefert 3,3 ccm O
 3 ccm Sauerstoff entsprechen also 10 mg H_2O_2
 1 ccm Sauerstoff entsprechen also $\frac{10}{3,3} = 3,03$ mg H_2O_2

An und für sich scheint es also ganz gleichgültig, welche Methode man wählt, denn man kann ja das Resultat der einen ohne weiteres mit dem der anderen vergleichen und umrechnen.

So einfach ist die Sache aber nicht. Beim Titrieren von H_2O_2 kann, durch die für die Zersetzung des H_2O_2 sonst ganz indifferente Salzsäure, das Titrationsergebnis beeinflusst werden, wenn gleich der Größtenwert dieses Einflusses nur ganz gering ist. Auch die Volumbestimmung des freigemachten Sauerstoffs bedarf einer einwandfreien Apparatur, damit nichts von dem Sauerstoff für die Messung verloren geht, weiter aber auch alle bei der Volummessung eines Gases in Frage kommenden Vorsichtsmaßregeln getroffen sind. Eine Apparatur, die dieser Forderung gerecht wird, wurde von Koeppel zu-

sammengestellt, und von Schellhase im Jahre 1903 bei seinen Untersuchungen über die Katalase der Milch zum ersten Mal benutzt. Sie stellt ein völlig in sich geschlossenes System dar (s. Koeppe, U. Strahlen und Katalase pag. 9. Abb. 1). Eine nähere Beschreibung übrigt sich, da dies an angegebener Stelle ausführlich geschehen ist.

Die Untersuchungen von Heyse über die Katalase des Blutes beweisen, daß beide Methoden unter dieser Voraussetzung vollständig gleichwertig sind. Die volumetrische Methode bietet dazu noch den großen Vorteil, daß man jeder Zeit ohne Unterbrechung des Versuchs den Verlauf der Reaktion beobachten und messen kann.

Senters Versuche, die H_2O_2 zersetzende Wirkung des Blutes durch exakte quantitative Messung zu erfassen, sind die ersten dieser Art. Alle früheren Untersuchungen anderer Autoren sind mehr qualitativer Natur. Seine ersten Versuche galten der Isolierung des H_2O_2 zersetzenden Enzyms des Blutes. Zuerst war man der Ansicht, daß diese so wirksame Substanz des Blutes an das Haemoglobin gebunden sei. Bergengrün schrieb dem Stroma der Erythrocyten diese Eigenschaft zu. Senter fand aber bei seinen Untersuchungen, daß der H_2O_2 zersetzende Bestandteil des Blutes fast vollständig in Wasser löslich ist, ja sogar filtriert werden kann, ohne wesentlich seiner Wirkung dabei einzubüßen. Es gelang ihm aus Blutlösung eine Substanz, die er „Hämasäure“ nannte, zu isolieren, die in hohem Maße die H_2O_2 zersetzende Eigenschaft besaß. Bei seinen Untersuchungen über die Abhängigkeit der Katalasewirkung von verschiedenen Faktoren benutzt er Lösungen seines Hämasäurepräparates.

An einer Stelle seiner Arbeit schreibt er: „Wenn man wenig Blut und verhältnismäßig starkes H_2O_2 verwendet, findet man, daß sich die Lösung während der Reaktion allmählich entfärbt, schließlich wird die Lösung völlig farblos, und die Katalyse hört vollkommen auf. Dieses Resultat stimmt mit den Beobachtungen anderer Autoren überein und wird dadurch erklärlich, daß zu gleicher Zeit mit der Katalyse eine Oxydation des Katalysators stattfindet. Um diese Oxydation soweit wie möglich zu vermeiden, empfiehlt es sich mit verdünnten H_2O_2 -Lösungen zu arbeiten und die Katalyse bei niedriger Temperatur vorzunehmen.“

Euler vertritt in seiner Chemie der Enzyme (1920) dieselbe Meinung: Er schreibt: „Die Katalase ist überhaupt offenbar gegen Oxydationsmittel sehr empfindlich.“ Senter verwandte deshalb stark Hämasäurelösungen und sehr verdünnte H_2O_2 -Lösungen, z. B. 1/400 molar. Diese Furcht vor höherer Konzentration des H_2O_2 und ihrem zerstörenden Einfluß auf die Katalase, hielt sich lange Zeit. Die späteren Untersucher verwenden auch nur H_2O_2 -Konzentration bis höchstens 1%. Als Meßmethode benutzte Senter die Titrationsmethode mit Kaliumpermanganat. Anfänglich hatte er mit der volumetrischen gearbeitet, in der Anordnung, wie sie von Raudnitz, Loew und Jakobson angewandt worden war. Er kam jedoch zu der Ansicht, daß die Methode nicht genau genug sei, da eine Übersättigung mit Sauerstoff eintrete. Letzterer Übelstand wird dadurch erklärlich, daß Senter nur 100 ccm und mehr Hämasäurelösung und den entsprechend großen Reaktionsvolumina arbeitete. Obwohl sich seine Resultate alle auf seine

Hämasepräparat beziehen, es uns aber vor allem darauf ankommt, die Wirkung einer Blutlösung mit allen ihren Bestandteilen zu erfahren, sind doch seine Endergebnisse sehr beachtlich: Er fand, daß erstens die Reaktion proportional der Konzentration des H_2O_2 verläuft; zweitens, daß die Reaktionsgeschwindigkeit innerhalb der Ver-
suchsfehler in sehr verdünnter H_2O_2 -Lösung proportional der Enzymkonzentration ist. Daneben stellte er das Inaktivwerden des Enzyms durch Erhitzen fest und bewies, daß die Säuren eine sehr starke Ver-
sauerung der Katalyse hervorrufen, ohne daß das Enzym dadurch dauernd beschädigt wird. An Hand von weiteren Versuchen studierte er die Einwirkung von Salzen und anderen Giften auf sein Hämasepräparat. Am Schluß seiner Arbeit schreibt er: „In verdünnten Lösungen folgt die Katalyse von H_2O_2 durch Hämase genau dem Massenwirkungsgesetze. Aus den Versuchstabellen geht hervor, daß Hämase, nachdem sie schon eine bedeutende Menge H_2O_2 zersetzt hat, noch genau dieselbe Wirksamkeit gegen H_2O_2 besitzt und daß zwischen der Wirkung von Enzymen und anorganischen Katalysatoren kein wesentlicher Unterschied zu bestehen scheint.“

Die zwei Jahre nach der Arbeit Senter's veröffentlichten Untersuchungen von Jolles und Oppenheim behandeln die quantitative Messung der Katalasewirkung von Blutlösungen mit allen Blutbestandteilen. Als Meßmethode verwenden sie die Thiosulfattitrationsmethode, sie titrieren also nicht wie Senter das unzersetzt gebliebene H_2O_2 mit Permanganat in schwefelsaurer Lösung, sondern fügen dem Reaktionsgemisch konzentrierte Salzsäure, Jodkalium und Stärkekleister zu und titrieren dann mit Natriumhyposulfatlösung. Durch Vergleichsversuche haben sie festgestellt, daß beide Arten der Titration reichhaltig brauchbar sind.

Zu Anfang ihrer Untersuchungen versuchten sie die absolute H_2O_2 -Zersetzungskraft der Blutkatalasen festzustellen. Sie verdünnten 0,1 ccm Blut mit 50 ccm 0,9% NaCl-Lös. und setzten 2 ccm dieser Blutlösung, von 20 ccm 1% H_2O_2 angefangen, immer steigend bis 5 ccm H_2O_2 -Lösung zu. Als Endwert erhielten sie eine Zersetzung von 0,651 gr H_2O_2 , auf 1 ccm Blut umgerechnet, 162,8 g H_2O_2 . Sie kommen zu der Auffassung, daß es ein fruchtloses Beginnen wäre, die absolute H_2O_2 -Zersetzungskraft des Blutes zu bestimmen, da eben dieses wirksame Agens im Blut ein Katalysator sei, der unbegrenzte Mengen anderer Stoffe zerlegen könne, ohne selbst wesentlich verändert zu werden.

Sie suchten deshalb nach der Möglichkeit, bei Messung der relativen Katalasewirkung ziemlich konstante Werte zu erhalten. In ihrer Arbeit heißt es: „Vor allem war zu ermitteln, in welchem Verhältnis die Menge des Blutes zu jener der H_2O_2 stehen muß, damit die zersetzte H_2O_2 -Menge einen möglichst konstanten Wert annimmt. Aus unseren Versuchen geht hervor, daß konstante Werte für die H_2O_2 -Zersetzung nur dann erhalten werden, wenn das Verhältnis der Menge der Blutlösung zu jener der H_2O_2 -Lösung ein konstantes ist. Ist ein Überschuß an H_2O_2 vorhanden, so steigt auch die Menge des zersetzten H_2O_2 an. Bei gleichem Verhältnis der Mengen und gleichbleibender Einwirkungsdauer ist die Konstanz der Zahlen eine be-

friedigende. Verlängerung der Einwirkungsdauer bringt bedeutende Erhöhung der zersetzten H_2O_2 -Menge mit sich.“

Sie wählen deshalb für ihre Hauptuntersuchungen folgende Versuchsanordnung: 0,05 ccm Blut werden mit 50 ccm 0,9% NaCl.-Lösung verdünnt. Von dieser Blutlösung werden jedesmal 10 ccm mit 30 ccm 1% H_2O_2 -Lösung zersetzt und nach 2ständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur wird mit Thiosulfat zurücktitriert.

Bei der Auswertung von etwa 100 Katalasebestimmungen erhalten sie für 1 ccm normales Menschenblut als mittleren Zersetzungswert die Zahl von 23 g H_2O_2 , da die Mehrzahl ihrer gefundenen Werte zwischen 20 und 26 liegt.

Bei ihren Untersuchungen über den Einfluß verschiedener äußerer Faktoren auf die Katalasewirkung fanden sie eine Hemmung der Wirkung bei Erniedrigung, wie bei Erhöhung der Temperatur und bei Zusatz von schon ganz geringen Mengen Säuren, während bei Zusatz von Protoplasmagiften, wie Sublimat und bei einer Erwärmung über 70° eine vollständige Aufhebung der Wirkung festzustellen war. Fast keinen merklichen Einfluß übte hingegen der Zusatz von Laug- und Alkohol auf die Kraft der Katalase aus. Folgende Bedingungen wären also, unter Berücksichtigung der Resultate ihrer Versuche, um vergleichbare konstante Werte zu erhalten, bei der Methodik der Katalasemessung einzuhalten: Gleiche Temperatur, konstantes Verhältnis zwischen der Menge der Blutlösung und Menge der H_2O_2 -Lösung, keine zu große Menge H_2O_2 und niedrige H_2O_2 -Konzentration und gleichlange Einwirkungsdauer. Unter solchen Voraussetzungen ist nach ihrer Ansicht der jeweilige Katalasegehalt des Blutes der einzige veränderliche Faktor.

v. Dalmady und v. Torday hingegen, die einige Zeit später hierüber Versuche angestellt haben, bestritten, daß bei oben erwähnten Faktoren, die einzige Variable der Katalasegehalt des Blutes wäre, sie empfehlen daher nur von Vergleichen der Katalysierfähigkeiten und nicht von Vergleichen des Katalasegehalts des Blutes zu sprechen.

Diese Ansicht blieb nicht vereinzelt. Batelli und Stern nehmen eine ganze Reihe von Fermenten an, durch deren Zusammenwirken erst die eigentliche Katalasewirkung zustande kommt. Bach und Zubkova, auf deren Untersuchungen im folgenden näher einzugehen sein wird, findet man, wie schon erwähnt, die Annahme von zwei Fermenten, der Katalase und der Protease.

Als Meßmethode verwenden Bach und Zubkova die Kaliumpermanganattitration. Ihre Versuchsanordnung ist folgende:

20 cmm Blut werden mit einer Capillarpipette abgemessen und in 20 ccm aq. dest. ausgeblasen.

Sie erhalten so eine hämolysierte Blutlösung von 1:1000, d. h. 1 ccm dieser Lösung entspricht 1 cmm Blut. Einen Teil dieser Blutlösung inaktivieren sie durch Kochen. In drei Erlenmeyerkölbchen, a, b, c, die je 7 ccm aq. dest. enthalten, bringen sie je 1 ccm der Blutlösung und zwar in a 1 ccm der inaktivierten, in b und c 1 ccm aktive Blutlösung. Den Inhalt des Kölbchens c erwärmen sie eine Stunde lang auf 37° und kühlen dann auf 17° ab.

Nun fügen sie zu jedem Reaktionsgemisch 2 ccm einer 1% H_2O_2 -Lösung und nach halbstündiger Einwirkung bei 17° unterbrechen sie die Reaktion mit 3 ccm 10% H_2SO_4 und titrieren.

In a tritt keine H_2O_2 -Zersetzung ein, da die Katalase durch Koen zerstört ist. Bei der Titration ergibt sich also die vollständige Menge der zugesetzten H_2O_2 -Lösung.

Die Differenz zwischen a und b ergibt auf H_2O_2 mg umgerechnet, die H_2O_2 -Menge, die durch 1 ccm aktive Blutlösung bei 17° zerlegt wurde (Katalasezahl). Die Differenz zwischen a und c ergibt die H_2O_2 -Menge, die durch die bei 37° gehaltene aktive Blutlösung zerlegt wurde. Die Differenz der bei 17° zerlegten H_2O_2 -Menge und der bei 37° zerlegten ergibt in mg H_2O_2 die Abnahme der Katalase unter dem Einfluß der Protease (Proteasezahl).

Zum besseren Verständnis führe ich einen ihrer Versuche als Beispiel an:

	a	b	c
	Inakt. Blutlös. bei 17°	akt. Blutlös. bei 17°	akt. Blutlös. bei 37°
verbrauchtes KMnO_4	12,1 ccm	2,4	4,9
inderverbrauch gegenüber „a“	—	9,7	7,2
ersetzt H_2O_2	—	$1,7 \times 9,7 = 16,66 \text{ mg} = \text{Katalasezahl};$ $1,7 \times 7,2 = 12,24 \text{ mg},$ $16,66 - 12,24 = 4,2 \text{ mg} =$ Proteasezahl.	

Der Faktor „1,7“ ist die 1 ccm ihrer Permanganatlös. äquivalente Menge H_2O_2 in mg. Ihre Definition lautet: „Die Katalasezahl ist die in Milligramm H_2O_2 ausgedrückte H_2O_2 -Menge, die durch 0,001 ccm Blut unter den angegebenen Bedingungen zersetzt wird.“

„Die Proteasezahl ist die in Milligramm H_2O_2 ausgedrückte, durch Erwärmen der Blutlösung auf 37° hervorgebrachte Abnahme der Katalasewirkung.“ Ihre Annahme, daß die Abnahme der Katalasewirkung der Proteasewirkung zuzuschreiben sei, und nicht durch die Temperaturerhöhung bewirkten Steigerung der Empfindlichkeit und der Unbeständigkeit der Katalasewirkung an und für sich, wird deshalb von ihnen als gerechtfertigt angesehen, weil bei demselben und demselben Versuchsobjekt gleichen Katalasezahlen, bei Temperaturerhöhung ungleiche Proteasewerte gegenüberstehen.

Nach ihren Untersuchungen schwankt die Katalasezahl des Blutes gesunder Menschen zwischen 14 und 18 (Mittelwert 16), die Proteasezahl zwischen 3 und 5 (Mittelwert 4). Zur besseren Übersicht und zum Vergleich sind im folgenden die Versuchsanordnung, Methodik und Mittelwert der Resultate bei Jolles-Oppenheim einerseits und Sch-Zubkova andererseits in Tabellenform gegenübergestellt.

Die Tabelle zeigt übersichtlich, worin beide Untersuchungsarten übereinstimmen, und wo eine verschiedene Anordnung gewählt ist. Fremden und die zulässige Fehlergrenze weit überschreitend, ist die große Differenz bei dem Endresultat. Die Untersuchungen von Bihoff dagegen und einiger russischer Autoren, die genau dieselbe

Faktoren	Jolles-Oppenheim	Bach-Zubkowa
1. Methode:	Thiosulfattitration	Permanganattitration
2. Bltlös:	0,05 ccm Bl. u. 50 ccm 0,9%ige NaCl (1:1000) 0,9% NaCl lös.	0,02 ccm Bl. u. 20 ccm aq. dest. (1:1000) aq. dest.
3. Art der Verdünnungs- flüssigkeit		
4. Versuchsmenge (Blutlös.)	10 ccm Blutlös. = 10 cmm Blut	1 ccm Blutlös. = 1 cmm Bl.
5. H ₂ O ₂ menge	30 ccm H ₂ O ₂ lös. = 300 mgr	2 ccm H ₂ O ₂ lös. = 20 mgr
6. H ₂ O ₂ Konz.	1%	1%
7. Zusatzflüssigkeit zum Versuch	—	7 ccm aq. dest.
8. Aktionsvolumen	40 ccm	10 ccm
9. Temperatur	17°	17°
10. Einwirkungsdauer	2 Stunden	1/2 Stunde
11. Wirkl. Konz. d. H ₂ O ₂ im Reaktionsgemisch	ca. 0,65%	ca. 0,25%
Katalasezahl für 1 cmm Blut	23 mgr H ₂ O ₂ (Mittelwert)	16 mgr H ₂ O ₂ (Mittelwert)

Anordnung wie bei der Mikromethode nach Bach und Zubkowa anwenden, stimmen ungefähr in ihren Resultaten überein. Die Angabe anderer Untersucher wieder, die eine etwas andere Anordnung wählen, widersprechen diesen Resultaten. Es war nun zu untersuchen, worauf diese Unstimmigkeiten zurückgeführt werden konnten, und eine geeignete Methodik zu finden, die vergleichbare und einigermaßen konstante Ergebnisse lieferte.

An der Gießener Kinderklinik sind im Laufe der letzten Jahre eine Anzahl Untersuchungen angestellt worden, in denen systematisch alle die in der ersten senkrechten Spalte obiger Tabelle angeführten Faktoren, durch deren Änderung ein Einfluß auf die Katalasewirkung möglich sein konnte, einer näheren Untersuchung unterzogen worden. Bei den Untersuchungen wurden jeweilig alle Faktoren bis auf einen konstant gehalten, und die Änderung im Reaktionsverlauf konnte dann als durch diesen einen Faktor bedingt aufgefaßt werden.

Meßmethode.

Verwandt wurde die volumetrische Methode. Sie ist gerade für diese Untersuchungen besonders geeignet, da sie gestattet, den Reaktionsverlauf in jeder Phase ohne Unterbrechung des Versuchs zu verfolgen, und zu gleicher Zeit mehrere Versuche nebeneinander anzustellen.

Einfluß der Abmessung des Blutquantums.

Bei den bisherigen Versuchen hatte sich die Katalasewirkung des Menschenblutes als so intensiv erwiesen, daß es vorteilhaft schien, die jeweilige Blutmenge so klein wie möglich zu wählen, um die Endwerte in möglichst engen Grenzen zu halten. Anfänglich benutzte man eine Reichert-Capillare von 8,2 cmm und eine Bürkerpipette von 25 cmm Fassungsvermögen und verdünnte dieses Blutquantum mit 8,2 bzw. 25 ccm Flüssigkeit. Man erhielt so jedesmal eine Blutlösung von 1:1000. 1 ccm dieser Lösung entsprach 1 cmm Blut. Heys

stellte Vergleichsversuche zwischen diesen beiden Abmeßarten an, und fand eine gute Übereinstimmung der Resultate. Der Einfluß dieses Faktors konnte demnach als unwesentlich betrachtet werden. Jetzt wird allgemein eine Leitzpipette von 20 cmm benutzt, deren Inhalt mit 20 ccm Lösungsmittel verdünnt wird, also auch eine Blutlösung 1:1000.

Einfluß der Art der Verdünnungslösung.

Die Versuche von Terhechte und Heyse über die Einwirkung der verschiedenen Lösungsflüssigkeiten auf die Reaktion ergaben, daß aq. dest. hämolysiertes Blut durchweg eine größere Wirkung entfaltete, als Blut in isosmotischen und hypertonischen Salzlösungen. Die kleinsten Werte wurden bei Kochsalzlösungen festgestellt. Koeppe schreibt dieses Verhalten darauf zurück, daß die Katalase eben nicht an die unverletzte Zelle gebunden ist und sich deshalb in der hämolysierten Blutlösung gleichmäßiger verteilt. Letzteres kommt sicher auch darin zum Ausdruck, daß man bei Vergleichsversuchen mit hämolysierten Blutlösungen besser übereinstimmende Resultate erzielt. Hieraus ist ersichtlich, daß es notwendig ist, um vergleichbare Werte zu erhalten, daß alle Untersucher eine gleichartige Verdünnungsflüssigkeit für das Blut anwenden. Will man optimale Werte erhalten, so eignet sich am besten aqua destillata.

Einfluß der Blutmenge beim Versuch.

Vergleicht man die Versuchsordnungen bei den einzelnen Untersuchern, so findet man, wie auch bei Jolles und Bach, bei vielen eine hohe Konzentration der Blutlösung, nämlich 1:1000, aber bald alle verwenden bei ihren Versuchen verschiedene Mengen von dieser Blutlösung. Z. B. 1; 2; 2,5; 5; 10 ccm Blutlösung. Ihre Reaktionsgemische enthalten also 1, 2, 2,5, 5, 10 cmm Blut. Aus ihren Resultaten errechnen sie dann die Werte für 1 cmm; bzw. 1 ccm Blut. Jost fand nun bei seinen daraufhin angestellten Untersuchungen, daß der Einfluß der verwendeten Blutmenge von großer Bedeutung ist. Ich führe zwei meiner Versuche an:

Tabelle II.

a		b
Blutlös: Verdünnungs- flüssigkeit O ₂ Zusatz	2,5 cmm Blut 2,5 ccm aq. dest. 5 ccm 1% 5 ccm 2% 5 ccm 4%	5,0 cmm Blut 2,5 ccm aq. dest. 5 ccm 1% 5 ccm 2% 5 ccm 4%
Entwickl. in 60 Min.	15,5 ccm O ₂ 15,1 ccm O ₂ 13,3 ccm O ₂	20,9 ccm O ₂ 32,7 ccm 34,2 ccm

Tabelle III.

	a	b	c
Blut Verdünnungsflüssigkeit O ₂ Zusatz	2,5 cmm 2,5 ccm aq. dest. 5 ccm 2%	5,0 cmm 2,5 ccm aq. dest. 5 ccm 2%	7,5 cmm 2,5 ccm aq. dest. 5 ccm 2%
Entwickl. in 60 Min.	17,8 ccm	35,7 ccm	43,0 ccm

Aus diesen beiden und ähnlichen Versuchen schließt er, daß keinesfalls berechtigt ist, zu sagen: die doppelte Menge Blut zerse die doppelte Menge H_2O_2 . „Ebenso lassen sich keine einfachen Beziehungen zwischen der Menge des Blutes — Katalasemenge mit der Menge des entwickelten O_2 — Katalasewirkung — mitteln, und es ist nicht angängig, die Katalasewirkung von 1 cm Blut (Katalasezahl) zu berechnen aus Versuchsergebnissen, die bei Verwendung einer anderen Menge als 1 cm Blut gewonnen wurden.“

Eine genauere Erörterung dieses befremdenden Resultats wird bis zur Schilderung meiner Versuche zurückgestellt, wo dann auch gleichzeitig der Einfluß der H_2O_2 -Menge auf den Reaktionsverlauf untersucht werden wird.

Einfluß der H_2O_2 -Konzentration.

Seit Senter vor der Verwendung starker H_2O_2 -Lösungen war in dem Glauben, daß dann gleichzeitig eine Oxydation des Katalysators, also der Katalase, eintrete, durch die die Katalasewirkung allmählich aufgehoben würde, was sich in der Entfärbung der Blutlösung äußere, sind von allen späteren Untersuchern durchweg nur ganz schwache H_2O_2 -Lösungen benutzt worden.

Versuche an der hiesigen Kinderklinik mit höherer H_2O_2 -Konzentration ließen begründete Zweifel an dieser bisher herrschenden Auffassung entstehen, und forderten dazu auf, die Wirkung dieses Faktors einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen. Wir führten bei Pleßner folgende Versuchsanordnung: Zu je 5 ccm Hämolyseblutlösung, enthaltend je 2 ccm Blut, wird je 5 ccm H_2O_2 -Lösung verschiedener Konzentration zugefügt, und zwar H_2O_2 -Konzentrationen von 0,5%, 1%, 2%, 4%, 8%, 15% und 30%. In die Blutlösung im Reaktionsgemisch in derselben Menge vorhanden ist, wird die zufließende H_2O_2 -Lösung von der Blutlösung zur Hälfte verdünnt, es wirkt also in Wirklichkeit nur die halbe Konzentration auf die Katalase ein. Die Versuchstemperatur betrug immer 18°–21° Cels. Die entstehende Sauerstoffmenge wurde von 5–5 Minuten abgelesen, wodurch es möglich war, den Reaktionsverlauf in Gestalt von Kurven aufzuzeichnen, und die Dynamik der Blutkatalase bei Einwirkung verschiedener H_2O_2 -Konzentrationen besser zu vergleichen.

Tabelle IV.

Pleßner fand, daß 2 ccm Blut entwickeln ccm Sauerstoff						
in		1	2	3	4	13½ Stunden
aus 5 ccm H_2O_2	0,25%:	4,5	4,6	4,6	4,6	4,6 ccm O
„ „ „	0,5 %:	15,2	15,4	15,4	15,4	15,4 ccm O
„ „ „	1 %:	14,0	14,5	14,6	14,8	15,0 ccm O
„ „ „	2 %:	11,3	12,0	12,2	12,5	13,7 ccm O
„ „ „	4 %:	9,0	11,1	11,6	12,1	13,2 ccm O
„ „ „	8 %:	5,9	6,8	7,5	8,2	12,6 ccm O
„ „ „	15 %:	4,0	5,6	6,8	7,5	13,6 ccm O

Die Tabelle zeigt:

I. Bei den geringen H_2O_2 -Konzentrationen wird innerhalb der ersten Stunde wesentlich mehr Sauerstoff entwickelt als bei den hohen Konzentrationen.

II. Bei längerer Einwirkungsdauer wächst der Sauerstoffwert bei geringer H_2O_2 -Konzentration nur noch langsam, bis nach einer gewissen Zeit die Reaktion zum Stillstand kommt. Bei hoher H_2O_2 -Konzentration geht die Sauerstoffentwicklung lange Zeit hindurch kontinuierlich weiter.

III. Die Gesamtzersetzung, die bei den verschiedenen Konzentrationen in verschieden langer Zeit erzielt wird, ist für alle Konzentrationen annähernd die gleiche.

Nur die ganz geringen Konzentrationen müssen gesondert betrachtet werden, denn bei ihnen bleibt die Gesamtzersetzung erheblich unter dem Wert, der bei der höheren Konzentration erzielten Sauerstoffmenge zurück.

IV. Die Katalase wird durch die hohen H_2O_2 -Konzentrationen nicht zerstört, sondern nur die Reaktionsgeschwindigkeit ist bedeutend verlangsamt.

V. Eine bestimmte Katalasemenge macht eine bestimmte O_2 -Menge frei. Die Katalase kann kein Katalysator im Ostwaldschen Sinne sein, da nach allem anzunehmen ist, daß die Katalase ein Katalysator mit einer sich erschöpfenden Energie darstellt.

Die Auffassung Sinters über die schädliche, die Katalase oxydierende Wirkung hoher H_2O_2 -Konzentration trifft nicht zu. Das Farbswerden der Blutlösung ist demnach keine Oxydation der Katalase durch das H_2O_2 , sondern vielleicht nur eine Oxydation des Blutfarbstoffes durch das überschüssige H_2O_2 , das, nachdem die Katalase verbraucht, seine Wirkung auf den Blutfarbstoff ausübt. Zur gleichen Anschauung kommt Bingold. Er bezeichnet auf Grund seiner Versuche die Katalase als Blutfarbstoffschutkörper bzw. Blutfarbstoffschutkomplex. Das H_2O_2 greift nach ihm nicht die Katalase an, sondern die Katalase vernichtet das H_2O_2 . Ist dagegen keine Katalase mehr vorhanden, oder ist sie durch einen anderen äußeren Einfluß zerstört worden, so greift noch vorhandenes H_2O_2 den Blutfarbstoff an.

Wertet man die Resultate Pleßners für die Methodik der Katalasemessung aus, so ist in Bezug auf den Gesamtzersetzungswert die Konzentration der H_2O_2 -Lösung gleichgültig. Es ist jedoch zweckmäßig, sich für die Verwendung einer niedrigen Konzentration zu entscheiden, da das Endresultat hierbei schneller erreicht wird, allerdings darf die Konzentration nicht zu gering gewählt werden, da dann der Regel dem betreffenden Blutquantum eine zu kleine Menge H_2O_2 zugesetzt wird, wie meine Versuche ergaben. Als geeignet wurden die Konzentrationen zwischen 1% und 3% angesehen. Bei Anwendung von 1 cmm Blut und einstündiger Einwirkungsdauer, wird in den meisten Fällen bei diesen Konzentrationen annähernd eine Erschöpfung der Katalase erzielt.

Einfluß der Menge der Zusatz(verdünnungs)flüssigkeit

Die Verdünnungsflüssigkeit wirkt insofern auf den Reaktionsverlauf ein, als ja mit ihrer Menge die Konzentration des zugesetzten H_2O_2 verändert wird. Ist die Menge der Verdünnungsflüssigkeit sehr groß, so wird die H_2O_2 -Lösung so stark verdünnt, daß die Anfangszersetzung wie auch die Gesamtzersetzung in einer bestimmten Zeit gegenüber einer etwas stärkeren Konzentration zurückbleibt. Im Reaktionsverlauf wird also verlangsamt. Es empfiehlt sich daher in Vergleichsversuchen auch hierauf Rücksicht zu nehmen und immer mit derselben Verdünnung — demselben Aktionsvolumen — zu arbeiten.

Einfluß der Temperatur.

Senter führte seine Versuche bei 0° aus. Er hatte festgestellt, daß die Katalasewirkung bei 10° und höherer Temperatur gering war als bei 0° , und daß nach Erhitzen über 70° die Katalasewirkung vollständig aufgehoben war. Diese Abnahme führte er darauf zurück, daß die Katalase bei höherer Temperatur schneller durch das H_2O_2 oxydiert würde.

Bach und Zubkova machen für die Abnahme der Katalasewirkung bei höherer Temperatur ein besonderes Ferment, die Protease, verantwortlich.

Schmitt fand bei seinen eingehenden Untersuchungen über die Abhängigkeit der Katalasewirkung von der Temperatur, daß die Wirkung von 0° an bis etwa 21° etwas zunimmt, von 21° ab dagegen mit der Erhöhung der Temperatur abnimmt, bis bei 60° nur noch 1/10 der bei Zimmertemperatur entwickelten O_2 -Menge erzielt wurde.

Um eine optimale Katalasewirkung zu erzielen, wäre es also zweckmäßig, die Messungen immer bei 18 — 21° vorzunehmen. Gleichzeitig wird durch die Versuche Schmitts erhellt, daß es notwendig ist bei Vergleichsversuchen stets die gleiche Temperatur einzuhalten.

Bei der Wahl der Versuchsanordnung zu meinen Untersuchungen waren alle bisher gemachten Erfahrungen mitbestimmend. Die oben erwähnten Faktoren wurden in Form, Art und Größe so gewählt, daß eine optimale und einwandfreie Wirkung gewährleistet schien.

Meine Versuchsanordnung war folgende:

An einer gut gereinigten Fingerbeere wurde durch Einstich mit dem Franckeschen Schnepfer eine Blutung bewirkt und in eine Leitkapillare 20 cmm Blut aufgesaugt. Dieses Blutquantum wurde 20 ccm aq. dest. steril. ausgeblasen und auf diese Weise eine hämolysierte Blutlösung von 1:1000 erhalten. 1 ccm dieser Lösung enthält 1 cmm Blut. Für jede Versuchsreihe wurde eine frische Blutlösung hergestellt. Als Verdünnungslösung beim Versuche wurde immer aq. dest. benutzt, welches abgekocht und mit stark empfindlichen Lactamuspapier geprüft, säurefrei war. Zur Herstellung der H_2O_2 -Lösung diente Mercksches Perhydrol rein (kein sog. Tropenperhydrol, da letztere, wie die Versuche von Jost zeigen, einen hemmenden Einfluß auf die Katalasewirkung ausübt). In den meisten Fällen kam eine Konzentration des H_2O_2 in der Höhe von 1% in Anwendung. Die

Versuchstemperatur lag bei allen Versuchen zwischen 18° und 23° Celsius. Das Aktionsvolumen, das heißt das Gesamtvolumen des Reaktionsgemisches war bei Versuchen mit einem konstanten Blutquantum immer gleichgroß, 10 ccm.

Neben der volumetrischen Methode wurde in einzelnen Fällen auch die titrimetrische angewandt, um die Gleichwertigkeit der beiden Methoden zu prüfen. Zum Titrieren wurde eine Kaliumpermanganatlösung benutzt, die pro Liter 3,7195 gr KMnO_4 enthielt. 1 ccm dieser Lösung entspricht 2 mg H_2O_2 .

Bei einer ganzen Anzahl von Versuchen nach der volumetrischen Methode wurde nach Abschluß des Versuches die noch vorhandene unzersetzt gebliebene Restmenge des H_2O_2 durch Titration festgestellt. Addiert man den so gefundenen Wert in mg H_2O_2 zu der Menge des zersetzten H_2O_2 , die aus den freigewordenen ccm Sauerstoff errechnet wurde, so ergibt sich die Gesamtmenge des jeweils zugesetzten H_2O_2 . Auf diese Weise war es möglich, sich von der Exaktheit der Messung zu überzeugen. Gleichzeitig wurde damit erwiesen, daß in jedem Falle nur Sauerstoffgas gemessen worden war.

Jolles und Oppenheim vertreten, wie eingangs erwähnt, folgende Auffassung: „Konstante Werte für die H_2O_2 -Zersetzung durch Blut werden nur dann erhalten, wenn das Verhältnis der Menge der Blutlösung zu jener der H_2O_2 -Lösung ein konstantes ist. Ist ein Überschuß an H_2O_2 vorhanden, so steigt auch die Menge des zersetzten Cl_2O_2 an.

Pleßners Versuche ergeben, daß die Katalaseenergie erschöpfbar ist. Ist das richtig, so mußte es möglich sein, bei Wahl einer kleinen Blutmenge ihre Gesamtzersetzungsenergie festzustellen, und der dabei gefundene Wert mußte dann auch bei einem Überschuß an Cl_2O_2 -Lösung konstant bleiben.

Die Tabellen zu Versuche 1 und 2 stellen meine ersten Untersuchungen in dieser Richtung dar. Zu je 1 cmm Blut (= 1 ccm Blutlösung 1:1000) wurde von 0,5 ccm 1% H_2O_2 -Lösung = 5 mg angegeben bis zu 2,5 ccm 1% H_2O_2 -Lösung = 25 mg steigend (also immer etwas mehr) H_2O_2 zugesetzt. Unverkennbar läßt sich ein Ansteigen der Sauerstoffmenge beim Vergleichen der nach einer Stunde Einwirkung erzielten Werte feststellen. Schon die nach den ersten 5 Min. erzielten Sauerstoffwerte zeigen dieses Anwachsen deutlich. Aus diesem Größerwerden der Anfangszersetzung in der Zeiteinheit wäre zu schließen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender H_2O_2 -Menge zunimmt. Da bis zu einem Zusatz von 2,5 ccm 1% H_2O_2 -Lösung = 25 mg H_2O_2 zu einem Kubikmillimeter Blut die erzielte Sauerstoffmenge noch ständig gewachsen war, ergab sich die Frage, wie ist der Reaktionsverlauf bei noch größerem Angebot von H_2O_2 .

Ich stellte nun zwei achtfache Versuchsreihen an, zu 1 cmm Blut wurde bis 5,5 ccm 1% H_2O_2 -Lösung = 55 mg H_2O_2 zugesetzt. Die Tabellen zu Versuch 3 und 4 zeigen die Anordnung.

Diese beiden Versuche lassen nun erkennen:

I. Daß die Werte der H_2O_2 -Zersetzung bei einstündiger Dauer des Versuchs nur bis zu einer gewissen Höhe ansteigen und dann trotz

Versuch I. Temperatur 23°.

	I		II		III		IV		V	
Blut:	1 ccm		1 ccm		1 ccm		1 ccm		1 ccm	
Verdünnungs- flüssigkeit	8,5 ccm aq. dest.		8,0 ccm aq. dest.		7,5 ccm aq. dest.		7,0 ccm aq. dest.		6,5 ccm aq. dest.	
H ₂ O ₂ Zusatz:	0,5 ccm 1%		1 ccm 1%		1,5 ccm 1%		2,0 ccm 1%		2,5 ccm 1%	
Zeit in Minuten	Wasser- stand in d. Bürette B ₁	Entw. O ₂ in ccm	Wasser- stand in d. Bürette B ₂	Entw. O ₂ in ccm	Wasser- stand in d. Bürette B ₃	Entw. O ₂ in ccm	Wasser- stand in d. Bürette B ₄	Entw. O ₂ in ccm	Wasser- stand in d. Bürette B ₅	Entw. O ₂ in ccm
0	0,5		1,0		1,5		2,0	—	2,5	
5	1,0	0,5	1,7	0,7	2,5	1,0	4,0	2,0	5,2	2,7
10	1,2	0,2	2,2	0,5	3,3	0,8	5,4	1,4	7,0	1,1
15	1,3	0,1	2,9	0,7	4,0	0,7	6,4	1,0	8,1	1,1
20	1,4	0,1	3,4	0,5	4,5	0,5	6,8	0,4	8,6	0,4
25	1,5	0,1	3,6	0,2	4,9	0,4	7,2	0,4	8,8	0,1
30	1,6	0,1	3,8	0,2	5,4	0,5	7,5	0,3	9,0	0,1
35	1,6	—	3,8	—	5,6	0,2	7,6	0,1	9,0	—
40	1,7	0,1	3,9	0,1	5,7	0,1	7,6	—	9,2	0,1
45	1,7	—	3,9	—	5,8	0,1	7,8	0,2	9,2	—
50	1,8	0,1	4,0	0,1	5,9	0,1	7,9	0,1	9,3	0,1
55	1,8	—	4,0	—	5,9	—	8,0	0,1	9,4	0,1
60	1,8	—	4,0	—	6,0	0,1	8,1	0,1	9,4	—
Gesamtmenge O ₂	1,3 ccm		3,0 ccm		4,5 ccm		6,1 ccm		6,9 ccm	
Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	3,9 mg		9,0 mg		13,6 mg		18,4 mg		20,9 mg	
Resttitration mit KMnO ₄	0		0		0		1,0 ccm = 2,0 mg		2,3 ccm = 4,6	

Versuch II. Temperatur 22°.

	I		II		III		IV		V	
Blut:	1 ccm		1 ccm		1 ccm		1 ccm		1 ccm	
Verdünnungs- flüssigkeit	8,5 ccm aq. dest.		8,0 ccm aq. dest.		7,5 ccm aq. dest.		7,0 ccm aq. dest.		6,5 ccm aq. dest.	
H ₂ O ₂ Zusatz:	0,5 ccm 1%		1 ccm 1%		1,5 ccm 1%		2,0 ccm 1%		2,5 ccm 1%	
0	0,5		1,0		1,5		2,0		2,5	
5	0,9	0,4	2,0	1,0	2,7	1,2	4,0	2,0	5,2	2,7
10	1,1	0,2	2,6	0,6	3,5	0,8	5,4	1,4	6,8	1,1
15	1,2	0,1	3,3	0,7	4,5	1,0	6,4	1,0	7,6	0,1
20	1,3	0,1	3,7	0,4	5,0	0,5	6,9	0,5	8,2	0,1
25	1,4	0,1	4,0	0,3	5,5	0,5	7,3	0,4	8,6	0,1
30	1,4	—	4,2	0,2	5,8	0,3	7,6	0,3	8,8	0,1
35	1,4	—	4,4	0,2	6,0	0,2	7,8	0,2	9,1	0,1
40	1,5	0,1	4,4	—	6,2	0,2	7,8	—	9,4	0,1
45	1,4	—	4,6	0,2	6,3	0,1	8,0	0,2	9,4	—
50	1,5	—	4,6	—	6,4	0,1	8,0	—	9,6	0,1
55	1,5	—	4,7	0,1	6,4	—	8,2	0,2	9,6	—
60	1,5	—	4,8	0,1	6,5	0,1	8,4	0,2	9,7	0,1
Gesamtmenge O ₂	1,0 ccm		3,8 ccm		5,0 ccm		6,4 ccm		7,2 ccm	
Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	3,03 mg		11,5 mg		15,1 mg		19,3 mg		21,8 mg	
Resttitration mit KMnO ₄	—		—		—		0,6 ccm = 1,2 mg		2,1 ccm = 4,2	

Versuch III. Temperatur 22°.

		I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII	
Blut:		1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm	
Verdünnungsflüssigkeit		7,0 ccm aq. dest.		6,5 ccm aq. dest.		6,0 ccm aq. dest.		5,5 ccm aq. dest.		5,0 ccm aq. dest.		4,5 ccm aq. dest.		4,0 ccm aq. dest.		3,5 ccm aq. dest.	
H ₂ O ₂ Zusatz:		2,0 ccm 1%		2,5 ccm 1%		3,0 ccm 1%		3,5 ccm 1%		4,0 ccm 1%		4,5 ccm 1%		5,0 ccm 1%		5,5 ccm 1%	
Zeit in Minuten		Wasserstd. in der Bürette B ₁		Wasserstd. in der Bürette B ₂		Wasserstd. in der Bürette B ₃		Wasserstd. in der Bürette B ₄		Wasserstd. in der Bürette B ₅		Wasserstd. in der Bürette B ₆		Wasserstd. in der Bürette B ₇		Wasserstd. in der Bürette B ₈	
		Entw. O ₂ in ccm		Entw. O ₂ in ccm		Entw. O ₂ in ccm		Entw. O ₂ in ccm		Entw. O ₂ in ccm		Entw. O ₂ in ccm		Entw. O ₂ in ccm		Entw. O ₂ in ccm	
0		2,0	1,6	2,5	2,0	3,0	2,4	3,5	2,6	4,0	2,6	4,5	2,5	5,0	2,4	5,5	2,3
5		3,6	1,3	4,5	1,6	5,4	1,7	6,1	1,9	6,6	2,0	7,0	2,4	7,4	2,3	7,8	2,4
10		4,9	1,1	6,1	1,3	7,1	1,6	8,0	1,8	8,6	1,8	9,4	1,6	9,1	1,6	10,0	1,5
15		6,0	0,7	7,4	0,8	8,7	0,9	9,8	0,8	10,4	0,6	11,0	1,0	10,8	1,0	11,5	1,1
20		6,7	0,5	8,2	0,7	9,6	0,6	10,6	0,6	11,4	0,5	12,0	0,4	12,0	0,4	12,6	0,4
25		7,2	0,5	8,9	0,5	10,2	0,4	11,2	0,4	11,9	0,3	12,4	0,2	12,4	0,2	13,0	0,2
30		7,7	0,3	9,4	0,2	10,6	0,3	11,6	0,2	12,2	0,2	12,8	0,2	13,0	0,2	13,4	0,2
35		8,0	0,1	9,6	0,2	10,9	0,1	11,8	0,2	12,4	0,1	13,0	0,2	13,2	0,2	13,6	0,2
40		8,1	0,1	9,8	0,2	11,1	0,2	12,0	0,2	12,5	0,1	13,2	0,2	13,5	0,2	13,8	0,2
45		8,2	0,2	10,0	0,2	11,2	0,1	12,0	—	12,6	0,1	12,5	—	13,8	0,2	14,0	0,2
50		8,4	0,2	10,2	0,2	11,4	0,1	12,2	0,2	12,8	0,2	13,4	0,2	14,0	0,2	14,2	0,2
55		8,4	—	10,3	0,1	11,5	0,1	12,2	—	12,8	—	13,4	—	14,1	0,1	14,3	0,1
60		8,5	0,1	10,4	0,1	11,6	0,1	12,3	0,1	12,8	—	13,4	—	14,1	—	14,4	0,1
120		8,6	0,1	10,8	0,4	11,8	0,2	12,3	—	13,0	0,2	13,5	0,1	14,1	—	14,4	—
Gesamtmenge: O ₂ in 120'		6,6 ccm		8,3 ccm		8,8 ccm		8,8 ccm		9,0 ccm		9,0 ccm		9,1 ccm		9,1 ccm	
in 30'		5,7 ccm		6,9 ccm		7,6 ccm		8,1 ccm		8,2 ccm		8,3 ccm		8,0 ccm		7,9 ccm	
in 60'		6,5 ccm		7,9 ccm		8,6 ccm		8,8 ccm		8,8 ccm		8,9 ccm		9,1 ccm		8,9 ccm	

Versuch IV. Temperatur 23°.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Blut:	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
Verdünnungsflüssigkeit	7,0 ccm aq. dest.	6,5 ccm aq. dest.	6,0 ccm aq. dest.	5,5 ccm aq. dest.	5,0 ccm aq. dest.	4,5 ccm aq. dest.	4,0 ccm aq. dest.	3,5 ccm aq. dest.
H ₂ O ₂ Zusatz:	2,0 ccm 1 %	2,5 ccm 1 %	3,0 ccm 1 %	3,5 ccm 1 %	4,0 ccm 1 %	4,5 ccm 1 %	5,0 ccm 1 %	5,5 ccm 1 %
0	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5
5	4,1	4,6	5,3	6,0	6,5	7,0	7,6	7,9
10	5,8	6,4	7,2	8,0	8,5	9,0	9,6	9,9
15	6,9	7,7	8,5	9,4	9,9	10,4	11,0	11,3
20	7,5	8,4	9,1	10,0	10,5	11,0	11,6	11,9
25	7,9	8,8	9,4	10,4	10,8	11,4	11,8	12,2
30	8,2	9,0	9,6	10,5	10,8	11,4	12,0	12,4
35	8,3	9,2	9,8	10,6	11,0	11,6	12,0	12,4
40	8,4	9,3	10,0	10,7	11,1	11,6	12,1	12,5
45	8,5	9,4	10,0	10,8	11,2	11,6	12,2	12,6
50	8,5	9,5	10,2	10,8	11,2	11,7	12,2	12,6
55	8,6	9,7	10,2	10,9	11,2	11,8	12,4	12,6
60	8,6	9,7	10,3	10,9	11,4	11,8	12,4	12,8
Gesamtmenge: O ₂ in ccm	6,6 ccm	7,2 ccm	7,3 ccm	7,4 ccm	7,4 ccm	7,3 ccm	7,4 ccm	7,3 ccm
Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	19,9 mg	21,8 mg	22,1 mg	22,4 mg	22,4 mg	22,1 mg	22,4 mg	22,1 mg
Restitutions mit KMnO ₄	0,5 ccm = 1 mg	2 ccm = 4 mg	4,4 ccm = 8,8 mg	6,7 ccm = 13,4 mg	9,3 ccm = 18,6 mg	12,0 ccm = 24 mg	14,1 ccm = 28,2 mg	17 ccm = 34 mg
Summe:	20,9 mg	25,8 mg	30,9 mg	35,8 mg	41 mg	46,1 mg	50,8 mg	56,1 mg

Zugabe noch größerer Mengen H_2O_2 ungefähr konstant bleiben, also eine bestimmte Blutmenge vermag nur eine annähernd entsprechende gleiche H_2O_2 -Menge zu zersetzen.

II. Daß die Werte für die Anfangszersetzung innerhalb der ersten 5 Minuten auch nur bis zu einer bestimmten Grenze zunehmen, und dann konstant bleiben.

III. Daß bei reichlichem Zusatz einer 1% H_2O_2 -Lösung zu 1 cmm Blut nach einer Stunde keine merkliche Zersetzung mehr stattfindet, die Reaktion demnach als beendet anzusehen ist.

IV. Daß einem Kubikmillimeter Blut bei einer Versuchstemperatur von $18-23^\circ \text{Cels.}$ mindestens 40 mg H_2O_2 zugesetzt werden müssen, um in jedem Falle eine volle Auswirkung der Katalase zu erzielen.

Bemerkenswert ist fernerhin die auffallende Gleichheit des Reaktionsverlaufs vom 4. Parallelversuch ab.

Betrachten wir die O_2 -Entwicklung in Versuch 4 für je 5 Minuten gesondert:

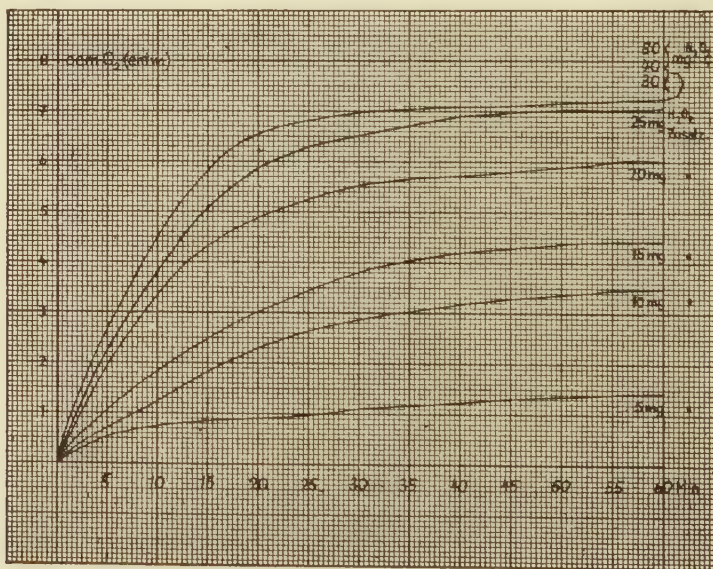
	35 mg	40 mg	45 mg	50 mg	55 mg H_2O_2 -Zusatz
Parallelversuch:	4.	5.	6.	7.	8.
1. 5 Minuten	2,5	2,5	2,5	2,6	2,4
2. „ „	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
3. „ „	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
4. „ „	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
5. „ „	0,4	0,3	0,4	0,2	0,3
6. „ „	0,1	—	—	0,2	0,2
7. „ „	0,1	0,2	0,2	—	—
8. „ „	0,1	0,1	—	0,1	0,1
9. „ „	0,1	0,1	—	0,1	0,1
10. „ „	—	—	0,1	—	—
11. „ „	0,1	—	0,1	0,2	—
12. „ „	—	0,2	—	—	0,2

Diese Zusammenstellung läßt erkennen, daß von 5 zu 5 Minuten bei allen Versuchen ungefähr die gleiche Sauerstoffmenge in Freiheit gesetzt wird und daß die Katalaseenergie gleichmäßig abzunehmen scheint, trotz der verschiedenen Menge von H_2O_2 , auf welche die Katalase einwirkt. Betrachten wir noch einmal Versuch 1 und 2, so finden wir bei einem H_2O_2 -Zusatz bis zu 15 mg H_2O_2 zu 1 cmm Blut eine Totalzersetzung des H_2O_2 , jedenfalls war nach einer Stunde Versuchsdauer bei der Resttitration kein unzersetztes H_2O_2 mehr nachzuweisen. Die Sauerstoffentwicklung hörte auf, nicht weil die Katalase erschöpft war, sondern weil kein H_2O_2 , also kein O-Lieferant mehr da war. Bei 20 mg H_2O_2 -Zusatz finden wir jedoch nach einer Stunde noch einen Rest unzersetztes H_2O_2 , obwohl doch noch wirksame Katalase vorhanden sein muß, wie die Versuche bei Zusatz größerer H_2O_2 -Mengen zeigen. Zur Klärung dieser Tatsache ließe sich folgendes anführen:

Bietet man einer Katalasemenge ungefähr gerade soviel H_2O_2 an, wie sie zersetzen kann, so verringert sich mit fortschreitender Zer-

setzung sowohl die H_2O_2 wie die Katalaseenergie. Mit der Verminderung der H_2O_2 -Menge im Aktionsvolumen, verringert sich auch ihre Konzentration. Nach einer gewissen Zeit wirkt die schon stark geschwächte Katalaseenergie nur noch auf wenig H_2O_2 in ganz geringer Konzentration ein. Die Folge ist eine immer zunehmende Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit. Die Richtigkeit dieser Auffassung ließ sich daran erkennen, daß bei längerer Einwirkungsdauer als eine Stunde schließlich doch auch 20 mg H_2O_2 restlos zersetzt wurden. Um eine bessere Übersicht über die Dynamik der Katalasewirkung bei steigendem H_2O_2 -Angebot zu erhalten, wurde der Reaktionsverlauf in Kurvenform aufgezeichnet. Die horizontale Koordinate gibt die Zeit an, die vertikale die in dieser Zeit freigewordenen ccm O_2 . Konstant blieb die Blutmenge (Katalase) und das Aktionsvolumen. Geändert wurde der H_2O_2 -Zusatz und damit die mg H_2O_2 .

Kurve 1.



Die Kurven lassen erkennen, daß tatsächlich die Reaktionsgeschwindigkeit mit steigendem H_2O_2 -Zusatz bis zu einer gewissen Höhe zuzunehmen scheint. Würde die Katalase in 1 cmm Blut genau die selbe Reaktionsgeschwindigkeit bei Zusatz von 5 mg H_2O_2 wie bei 40 mg H_2O_2 entfalten, so müßten nach 5 Minuten Einwirkungsdauer bei Zusatz von nur 5 mg H_2O_2 diese restlos zersetzt sein. Man sieht aber, daß sich die Reaktion längere Zeit hinzieht, bis etwa nach 40 Minuten die 5 mg H_2O_2 total zersetzt sind.

Nicht zu verkennen, ist eine gewisse Ähnlichkeit im Verlauf der einzelnen Kurven. Man könnte glauben, die Katalase antwortet auf den stärkeren Reiz, den eine größere H_2O_2 -Menge ausübt, bis zu einer gewissen Grenze mit einer in demselben Verhältnis wachsenden Vergrößerung ihrer Reaktionsgeschwindigkeit. Dieses eigenartige Verhalten

ten der Katalase zu erklären, reichen die bisherigen Versuche nicht aus, es genügt zunächst die Feststellung desselben. Dieses Verhalten widerspricht auch nicht den Versuchsergebnissen von Pleßner, denn dieser arbeitete mit sehr hohen H_2O_2 -Konzentrationen, und fand selbst schon für die niedrigen Konzentrationen z. B. 0,25% ein abweichendes Verhalten.

Versuch V. Temperatur 24°.

Blut	1 cmm		1 cmm		1 cmm	
Verdünnungs- flüssigkeit	8,5 ccm aq. dest.		8,0 ccm aq. dest.		7,5 ccm aq. dest.	
H ₂ O ₂ -Zusatz	0,5 ccm 1%		1 ccm 1%		1,5 ccm 1%	
Zeit	Verbrauchte KMnO ₄ -Lös. in ccm	Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	Verbrauchte KMnO ₄ -Lös. in ccm	Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	Verbrauchte KMnO ₄ -Lös. in ccm	Zersetztes H ₂ O ₂ in mg
nach 60 Minut.	—	5,0 mg	—	10 mg	—	15 mg
Blut		1 cmm		1 cmm		
Verdünnungs- flüssigkeit		7,0 ccm aq. dest.		5,0 ccm aq. dest.		
H ₂ O ₂ -Zusatz		2,0 ccm 1%		4,0 ccm 1%		
Zeit	Verbrauchte KMnO ₄ -Lös. in ccm	Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	Verbrauchte KMnO ₄ -Lös. in ccm	Zersetztes H ₂ O ₂ in mg		
nach 60 Minut.		0,2		19,6 mg		8,0
						24,0 mg

Der Versuch 5 und 6 zeigen die gleiche Anordnung wie die vorherigen Versuche. Sie sind jedoch rein titrimetrische Versuche und geben deshalb nur die Werte nach 30 bzw. 60 Min. an. Die Resultate dieser Versuche geben genau dasselbe Bild wie die rein volumetrischen Versuche, nur daß man bei ihnen nicht den ganzen Verlauf der Reaktion von 5 zu 5 Minuten beobachten kann. In der Tabelle zu Versuch 6 wurden die näheren Beziehungen für die horizontale Spalte 4 der Tabelle zu Versuch 5 der Einfachheit halber weggelassen.

Versuch VI.

Blut	1 cmm	1 cmm	1 cmm	1 cmm
Verdünnungsflüssigkeit	7,0 ccm aq. dest.	6,5 ccm aq. dest.	6,0 ccm aq. dest.	5,5 ccm aq. dest.
H_2O_2 -Zusatz	2,0 ccm 1% = 20 mg	2,5 ccm 1% = 25 mg	3,0 ccm 1% = 30 mg	3,5 ccm 1% = 35 mg
nach 60 Minuten	0,4 19,2	2,0 21,0	3,5 23,0	5,7 23,6
nach 30 Minuten	0,75 18,5	3,0 19,0	4,7 20,6	6,9 21,2
Blut	1 cmm	1 cmm	1 cmm	1 cmm
Verdünnungsflüssigkeit	5,0 ccm aq. dest.	4,5 ccm aq. dest.	4,0 ccm aq. dest.	3,5 ccm aq. dest.
H_2O_2 -Zusatz	4,0 ccm 1% = 40 mg	4,5 ccm 1% = 45 mg	5,0 ccm 1% = 50 mg	5,5 ccm 1% = 55 mg
nach 60 Minuten	8,1 23,8	10,5 24,0	13,1 23,8	15,6 23,8
nach 30 Minuten	9,4 21,2	11,8 21,4	14,6 20,8	16,9 21,2

Da wir aus dem Verlauf der Untersuchungen schließen mußten, daß die bei einem H_2O_2 -Zusatz von mindestens 40 mg zu 1 cmm Blut

gefundenen Werte die vollständige Katalaseenergie dieses Blutquantums angaben, so galten unsere nächsten Untersuchungen der Frage: Macht die doppelte Menge ein und desselben Blutes auch die doppelte Menge Sauerstoff aus H_2O_2 frei?

Bei Jost fanden wir diese Frage verneint. Sehen wir uns jetzt seine Versuchsanordnung unter Berücksichtigung der zugesetzten H_2O_2 -Menge noch einmal an.

Bei ihm wirken

	a	b	c
	2,5 cmm Blut	5 cmm Blut	7,5 cmm Blut
auf 5 ccm 2% lös. = 100 mg H_2O_2	= 100 mg H_2O_2	= 100 mg H_2O_2	= 100 mg H_2O_2 ein
und erzielt	17,8 ccm O_2	35,7 ccm O_2	43,0 ccm O_2 .

Rechnen wir die erzielten Sauerstoffmengen in mg H_2O_2 um, so erhalten wir die Menge des zersetzten H_2O_2 in mg:

a	b	c
53,43 mg H_2O_2	108,17 mg H_2O_2	130,29 mg H_2O_2

Josts 2% H_2O_2 -Lösung war hiernach von stärkerer Konzentration, oder er hat mehr als 5 ccm 2% H_2O_2 -Lösung zugesetzt, denn eine genau 2% H_2O_2 -Lösung enthält pro ccm 20 mg H_2O_2 . 5 ccm 2% H_2O_2 demnach 100 mg H_2O_2 . Bei seinem Versuche „c“ finden wir aber eine zersetzte H_2O_2 -Menge von 130,29 mg H_2O_2 .

Aber wichtiger für uns ist folgendes: 2,5 cmm Blut haben bei ihm 53,43 mg H_2O_2 in einer Stunde zersetzt. 7,5 cmm Blut, also die dreifache Blutmenge, könnten demnach in einer Stunde $3 \times 53,43$ mg H_2O_2 = 160,26 mg H_2O_2 zersetzen. Dieser Blutmenge stand also viel zu wenig H_2O_2 zur Verfügung, um sich vollständig auswirken zu können, obwohl im Reaktionsgemisch schon mehr H_2O_2 vorhanden war, als man auf Grund der zugesetzten 5 ccm 2% H_2O_2 -Lösung annehmen konnte. Die doppelte Blutmenge hat, wie Versuch „b“ bei Jost zeigt, in 1 Stunde die doppelte Menge H_2O_2 zersetzt, da ihr gerade genügend H_2O_2 zur Verfügung stand. Bei der dreifachen Menge wird nicht die dreifache H_2O_2 -Zersetzung erzielt werden, auch wenn (nach der Meinung von Koeppe) genügend lange Zeit zur Verfügung stand, weil eben nicht genug H_2O_2 vorhanden ist.

Es gilt nun zu untersuchen, wie das Ergebnis ausfiel, wenn eine vielfachen Blutmenge genügend H_2O_2 zugesetzt wurde.

Versuch 7 gibt hierüber keine genügende Aufklärung, oder vielmehr das Ergebnis ist schwer zu prüfen. Wir finden bei (1 Stunde Einwirkungszeit) 0,4 cmm Blut gibt 2,1 ccm O_2 , wirkt also doppelt so stark wie 0,2 cmm Blut (1,0 ccm O_2), die dreifache Blutmenge (0,6 cmm) wirkt erheblich stärker. Statt 3,0 ccm werden 4,0 ccm O_2 frei, die vierfache (0,8 cmm Blut) liefert statt 4,0 ccm 5,4 ccm O_2 , die fünffache 1 cmm Blut, liefert statt 5,0 ccm, 7,2 ccm O_2 . Wir sehen, daß 1 cmm Blut, wie bei manchen unserer früheren Versuche 7,2 ccm O_2 in einer Stunde liefert. Gehen wir jetzt von diesem Wert aus, so müßte 0,2 cmm Blut den fünften Teil von $7,2 = 1,4$ ccm O_2 liefern, es liefert aber nur 1,0 ccm O_2 . Es ist das vielleicht so zu deuten, daß minimal

tmengen in einem großen Aktionsvolumen, in ihrer zersetzenden
 aft gehemmt werden, oder mit anderen Worten, die absolute Blut-
 nge ist bei 0,2 cmm Blut der fünfte Teil von 1 cmm Blut, aber die
 tkonzentration ist im ersten Falle 2 : 100, im zweiten 10 : 100. Es
 eint also, daß wie die Konzentration der H_2O_2 -Lösung neben
 absoluten Menge von Einfluß ist, so auch bei dem katalasehaltigen
 t, nicht nur die absolute Menge des Blutes allein den Ausschlag
 t, sondern auch die Konzentration eine Rolle spielt. Beides, abso-
 e Menge und die Konzentration gleichzuhalten, ist nur möglich
 verschiedenen Aktionsvolumen, d. h. wenn wir wie folgt verfahren:

Versuch VII.

Blutlösung 1:5000

Blutlösung	1 ccm = 0,2 cmm Blut	2 ccm = 0,4 cmm Blut	3 ccm = 0,6 cmm Blut	4 ccm = 0,8 cmm Blut	5 ccm = 1,0 cmm Blut
Dünnungs- flüssigkeit	7 ccm aq. dest.	6 ccm aq. dest.	5 ccm aq. dest.	4 ccm aq. dest.	3 ccm aq. dest.
H_2O_2 -Lösung	2 ccm 2% 40 mg H_2O_2	2 ccm 2% 40 mg H_2O_2	2 ccm 2% 40 mg H_2O_2	2 ccm 2% 40 mg H_2O_2	2 ccm 2% 40 mg H_2O_2
Zeit: 0 Min.	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
10	2,4 0,2	2,6 0,4	3,4 1,4	4,3 2,1	5,8 3,6
20	2,6 0,2	3,3 0,7	4,5 1,1	5,6 1,3	7,4 1,6
30	2,8 0,2	3,8 0,5	5,3 0,8	6,6 1,0	8,4 1,0
40	3,0 0,2	4,0 0,2	5,7 0,4	7,1 0,5	9,0 0,6
50	3,1 0,1	4,2 0,2	6,0 0,3	7,4 0,3	9,2 0,2
60	3,2 0,1	4,3 0,1	6,2 0,2	7,6 0,2	9,4 0,2
Gesamtmenge in 60 Min.	1,0	2,1	4,0	5,4	7,2
Minuten	3,3 0,1	4,4 0,1	6,4 0,2	7,8 0,2	9,5 0,1
Schütteln	3,6 0,2	5,0 0,6	6,7 0,3	8,4 0,6	10,0 0,5
	1,3	2,8	4,5	6,2	7,8

Zu 1 ccm Blutlösung (1 : 1000) in 6 ccm aq. dest. werden 3 ccm
 H_2O_2 -Lösung = 30 mg zugesetzt.

Zu 2 ccm Blutlösung (1 : 1000) in 12 ccm aq. dest. werden 6 ccm
 H_2O_2 -Lösung = 60 mg zugesetzt.

Zu 3 ccm Blutlösung (1 : 1000) in 18 ccm aq. dest. werden 9 ccm
 H_2O_2 -Lösung = 90 mg zugesetzt.

Dann gilt bei

1 cmm Blut wirkt in 10 ccm Aktionsvol. auf 30 mg H_2O_2 ein.

2 cmm Blut wirken in 20 ccm Aktionsvol. auf 60 mg H_2O_2 ein.

3 cmm Blut wirken in 30 ccm Aktionsvol. auf 90 mg H_2O_2 ein.

Die Blut- und H_2O_2 -Konzentrationsverhältnisse in den Reaktions-
 mischen sind demnach folgende:

In A. Blutkonzentration 1 : 10 H_2O_2 30 : 10 = 3 : 1

In B. Blutkonzentration 1 : 10 H_2O_2 60 : 20 = 3 : 1

In C. Blutkonzentration 1 : 10 H_2O_2 90 : 30 = 3 : 1.

Die Konzentration der Ferment (Blut-) lösung sowohl wie die Kon-
 zentration der Substratlösung (H_2O_2) war in jedem Falle also die
 che.

Versuch VIII.

	A	B	C
Blutlösung	1 ccm	2 ccm	3 ccm
Verdünnungsflüssigkeit	6 ccm aq. dest.	12 ccm aq. dest.	18 ccm aq. dest.
H ₂ O ₂ -Lösung	3 ccm 1%	6 ccm 1%	9 ccm 1%
Nach 10 Minuten	4,2 ccm O ₂	6,4	7,9
20	6,4	10,7	13,6
30	7,4	13,1	17,4
40	8,0	15,2	20,8
50	8,7	17,5	26,0
60	9,0	18,0	26,8
Gesamtmenge O ₂	9,0 ccm	18,0 ccm	26,8 ccm
Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	27,2 mg	54,5 mg	81,2 mg
Resttitration mit KMnO ₄	1,8 ccm = 3,6 mg H ₂ O ₂	3,4 ccm = 6,8 mg H ₂ O ₂	6,1 ccm = 12,2 mg H ₂ O ₂

Der Versuch zeigt, daß in 60 Minuten die doppelte bzw. dreifache Menge Blut die doppelte bzw. dreifache Menge Sauerstoff freigemacht hat. Die Werte der Anfangszersetzung freilich zeigen dieses Verhältnis jedoch nicht. Worauf diese Verzögerung der Anfangszersetzung zurückzuführen ist, kann ich nicht erklären. Es sollte nur geprüft werden, wie sich die Werte der Gesamtzersetzung zueinander verhalten. Bei Versuch 9 wurde die vier- und fünffache Blutmenge verwandt.

Versuch IX.

	1 ccm	4 ccm	5 ccm
Blutlösung	1 ccm	4 ccm	5 ccm
Verdünnungsflüssigkeit	6 ccm aq. dest.	24 ccm aq. dest.	30 ccm aq. dest.
H ₂ O ₂ -Lösung	3 ccm 1%	12 ccm 1%	15 ccm 1%
Nach 10 Minuten	3,7	13,5	15,5
20	6,2	22,4	25,9
30	7,6	26,8	31,3
40	8,4	29,6	34,6
50	8,8	32,9	38,5
60	9,0	34,8	40,8
80	9,1	35,7	43,7
Nach Schütteln	9,1	36,9	44,5
Gesamtmenge O ₂ in ccm	9,1 ccm	36,9 ccm	44,5 ccm
Zersetztes H ₂ O ₂ in mg	27,5 mg	111,8 mg	134,8 mg

Auch dieser Versuch läßt erkennen, daß bei 1 cmm Blut in 60 Minuten genau dieselbe Menge Sauerstoff frei wurde wie bei Versuch 8 bei der 4- und 5fachen Blutmenge jedoch war in 60 Minuten noch nicht die 4- bzw. 5fache Menge Sauerstoff erzielt. Erst nach 80 Minuten und Schütteln wurde kein Sauerstoff mehr in Freiheit gesetzt und die Reaktion konnte als beendet angesehen werden. Vergleich man nun die Werte, so hat die 4- bzw. 5fache Menge Blut auch die entsprechende Menge Sauerstoff in Freiheit gesetzt.

Hieraus ist zu schließen, daß bei größeren Blutmengen die Versuchsdauer, also die Einwirkungszeit, verlängert werden muß, da man sonst zu kleine Werte erzielt. Dieser Fehler wirkt sich dann natürlich

ch bei der Umbrechung auf kleinere oder größere Blutmengen aus. zählt man also eine Versuchsdauer von 1 Stunde, so ist es zweckmäßig, keine größere Blutmenge als höchstens 3 cmm zu benutzen. Versuch 10, ein Titrationsversuch, zeigt noch einmal dieselben Verhältnisse. Die Versuchsdauer betrug 2 Stunden.

Der Versuch in der Spalte „6“ nach der volumetrischen Methode dient als Kontrolle.

Versuch X.

	1	2	3	4	5	6
Blutlösung	1 ccm	2 ccm	3 ccm	4 ccm	5 ccm	1 ccm
Verdünnungs- flüssigkeit	6 ccm aq. dest. 3 ccm 1%	12 ccm aq. dest.	18 ccm aq. dest.	24 ccm aq. dest.	30 ccm aq. dest.	6 ccm aq. dest.
H ₂ O ₂ -Lösung	= 30 mg	60 mg	90 mg	120 mg	150 mg	3 ccm 1%
Titrationsergebnisse von KMnO ₄ - lösung nach 120'	2,3 ccm	4,9 ccm	7,7 ccm	11,0 ccm	13,6 ccm	8,6 ccm O ₂
Titrationsergebnisse in mg H ₂ O ₂	4,6 mg	9,8 mg	15,4 mg	22,0 mg	27,2 mg	Resttitrat 2,2 ccm KMnO ₄ = 4,4 mg H ₂ O ₂
Zugesetztes H ₂ O ₂ in mg	25,4 mg	50,2 mg	74,6 mg	98,0 mg	122,8 mg	26,0 mg

Auf Grund der Resultate der Versuche können wir jetzt sagen: doppelte Menge Blut zersetzt die doppelte Menge H₂O₂ in genau gleichen Zeit. Bei einem größeren Vielfachen der Blutmenge muß Versuchsdauer verlängert werden, um auch hier das entsprechende Vielfache für das zersetzte H₂O₂ zu erhalten. Vorausgesetzt natürlich, daß dem jeweiligen Blutquantum eine genügende Menge H₂O₂ zur Verfügung steht.

Gleichzeitig bekräftigen die Untersuchungen die Annahme, daß eine bestimmte Blutmenge eine bestimmte erschöpfbare Menge Katalase enthält.

Die Erläuterungen zu den Ergebnissen früherer Untersucher und eigene Versuche lassen erkennen, in wie großem Maße die Katalasewirkung von den verschiedensten Faktoren beeinflußt wird. Andererseits ist unverkennbar, daß die Möglichkeit besteht bei Einhaltung bestimmter Bedingungen, die Katalasewirkung so zu messen, daß in engen Grenzen Fehlergrenzen sich haltende, einwandfreie und vergleichbare Resultate erzielt werden.

Unter Berücksichtigung aller unserer Erfahrungen, scheint uns folgende Versuchsanordnung (Methodik) für die Blut-Katalasemessung am besten geeignet.

Zu 1 ccm Blut (1 ccm Blutlös. 1 : 1000) werden mindestens 40 mg H₂O₂ entweder in Gestalt einer 1%, 2%, 3% H₂O₂-Lösung zugesetzt. Verdünnungsflüssigkeit wird jeweils soviel aq. dest. (steril) zugefügt, daß das Aktionsvolumen immer 10 ccm beträgt.

- a) 1 ccm Blutlös. + 5 ccm aq. dest. + 4,0 ccm 1% H₂O₂-Lös.,
- b) 1 ccm Blutlös. + 3 ccm aq. dest. + 6,0 ccm 1% H₂O₂-Lös.,
- c) 1 ccm Blutlös. + 7 ccm aq. dest. + 2,0 ccm 3% H₂O₂-Lös.,

Als Versuchtemperatur ist eine Temperatur zwischen 17 und 23 Celsius zu wählen. Als Einwirkungszeit muß eine Stunde gelten. Es ist vorteilhaft, die H_2O_2 -Lösungen öfter zu erneuern und in dunklen Flaschen aufzubewahren. Dies gilt besonders bei Verwendung 1% Lösungen. Die 2- und 3%-Lösungen sind nicht so empfindlich. Häufig man diese Bedingungen ein, so wird man auch bei Umrechnungen der erzielten Werte auf eine größere Blutmenge annähernd richtige Ergebnisse erzielen.

Tabelle V enthält die Katalasewerte von 30 Untersuchungen an verschiedenen Tagen mit meinem eignen Blut. Als Methodik wurde die Anordnung gewählt, wie sie oben bei „a“ angegeben ist. Die Werte wurden nach einer halben und nach einer Stunde notiert.

Bei halbstündiger Einwirkungszeit erhielt ich Werte, die zwischen 17,8 mg und 24,24 mg schwankten.

Tabelle V.

Versuchs- anzahl	ccm O_2	mg H_2O_2	ccm O_2	mg H_2O_2
	Entwickelter O_2 in 30 Min.	Zersetztes H_2O_2 in mg in 30 Min.	Entwickelter O_2 in 60 Min.	Zersetztes H_2O_2 in mg in 60 Min.
1	6,3	10,080	7,4	22,42
2	6,6	19,90	7,6	23,02
3	5,9	17,80	7,1	21,51
4	6,7	20,30	7,8	23,63
5	6,3	19,08	7,5	22,72
6	7,0	21,20	8,2	24,84
7	6,1	18,40	7,4	22,42
8	6,0	18,18	7,1	21,51
9	6,8	20,60	8,0	24,24
10	6,6	19,80	7,5	22,72
11	6,9	20,90	8,2	24,84
12	6,7	20,30	7,0	22,93
13	7,0	21,20	9,0	27,27
14	6,4	19,39	7,2	21,21
15	7,4	22,42	8,4	25,45
16	7,9	22,93	9,8	29,69
17	6,5	19,69	7,5	22,72
18	7,0	21,20	8,1	24,54
19	6,1	18,40	7,4	22,42
20	8,0	24,24	9,7	29,39
21	7,2	21,81	8,4	25,45
22	6,8	20,60	7,7	23,33
23	6,4	19,39	7,5	22,72
24	7,4	22,42	10,0	30,30
25	6,8	20,6	7,8	23,63
26	6,2	18,78	7,2	21,81
27	7,4	22,42	8,5	25,75
28	7,0	21,20	8,0	24,24
29	6,9	20,90	7,7	23,33
30	6,5	19,69	7,6	23,02

Bei einstündiger Einwirkung Werte zwischen 21,51 mg und 36 mg H_2O_2 .

Der Mittelwert für eine halbe Stunde beträgt 20,43 mg H_2O_2 .

Der Mittelwert für eine Stunde beträgt 25,45 mg H_2O_2 .

Da wir uns auf eine einstündige Versuchsdauer festlegen wollen, dann, wie wir aus früheren Untersuchungen sehen, in den meisten Fällen die Reaktion annähernd zum Stillstand gekommen ist, so können wir sagen:

1 ccm Menschenblut zersetzt im Mittel 25,0 mg H_2O_2 .

Es lag nun nahe, unsere Methodik der Katalasemessung mit der von Bach und Zubkova näher zu vergleichen, ganz besonders deshalb, weil Bischoff und einige russische Autoren auch nach der letzteren gearbeitet haben.

Die nun folgenden Versuche 11, 12, 13, 14 haben dieselbe Anordnung, wie wir sie bei den Untersuchungen von Bach und Zubkova finden, nur mit dem Unterschied, daß nicht die Titrations-, sondern immer die volumetrische Methode angewandt wurde. Meine früheren Versuche zeigen, daß beide Meßmethoden in bezug auf die Endresultate vollständig gleichwertig sind, und daß deshalb bei etwa auftretenden Unterschieden, nicht der Benutzung einer anderen Meßmethode die Schuld zuzuschreiben ist.

Die Versuche unter „a“ erhielten dieselbe H_2O_2 -Menge zugesetzt, wie sie Bach und Zubkova anwenden, also 2 ccm 1% H_2O_2 -Lösung = 20 mg H_2O_2 , den Versuchen unter „b“ wurde 2 ccm 3% H_2O_2 -Lösung = 60 mg H_2O_2 zugesetzt. Bei den Versuchen „a“ und „b“ der Kolonne „I“ war die Versuchstemperatur 17° Cels., bei den Versuchen „a“ und „b“ der Kolonne „II“ wurde die Blutlösung, ehe H_2O_2 zugesetzt wurde, eine Stunde lang auf 37° erhitzt und dann auf 17° abgekühlt. Rechnen wir die freigewordenen Sauerstoffmengen in mg O_2 um, so erhalten wir bei I die Katalasezahlen, und zwar unter „a“ für 20 mg H_2O_2 -Zusatz, unter „b“ für 60 mg H_2O_2 -Zusatz, bei II

Werte, die von den jeweiligen Katalasezahlen subtrahiert, die Proteasezahlen ergeben. Durch die Wahl der volumetrischen Methode ist es möglich, sowohl die Werte für eine halbe, wie für eine ganze Stunde bei ein und demselben Versuch zu notieren. Die Umrechnungen der Versuch 11 und 12 ergeben als Katalase und Proteasewerte bei dem Zusatz von H_2O_2 von

Tabelle VI.

	20 mg H_2O_2		und	60 mg H_2O_2	
	KZ	PZ	KZ	PZ	
nach 30 Min.:	16,05 mg	6,45 mg	H_2O_2 18,78 mg	7,27 mg	H_2O_2
Versuch 11					
nach 60 Min.:	20,3 mg	6,97 mg	H_2O_2 23,02 mg	7,85 mg	H_2O_2
nach 30 Min.:	15,15 mg	7,28 mg	H_2O_2 18,78 mg	9,48 mg	H_2O_2

Versuch 12

nach 30 Min.: 12,00 mg 6,00 mg H_2O_2 22,42 mg 10,61 mg H_2O_2

Die Zusammenstellung der Katalasezahlen und Proteasezahlen aus den Versuchen 11 und 12 in Tabelle VI läßt erkennen, daß sowohl bei halbstündiger wie bei einstündiger Wirkungszeit die Werte bei 60 mg H_2O_2 -Zusatz größer sind als bei 20 mg Zusatz. Die Umrechnungen zu Versuch 13 und 14 liefern ähnliche Ergebnisse und werden deshalb nicht besonders erwähnt.

Versuch XI.

	I				II			
Temperatur	Zimmertemperatur: 17° Celsius				Eine Stunde im Wasserbad bei 37° Celsius erhitzt, dann auf 17° Celsius abgekühlt und mit H ₂ O ₂ versetzt			
	a		b		a		b	
Blutlösung	1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm	
Verdünnungs- flüssigkeit	7 ccm aq. dest.		7 ccm aq. dest.		7 ccm aq. dest.		7 ccm aq. dest.	
H ₂ O ₂ -Lösung	2 ccm 1%		2 ccm 3%		2 ccm 1%		2 ccm 3%	
0 Minuten	1,0		1,0		2,0		2,0	
30 Minuten	6,3	5,3	7,2	6,2	5,2	3,2	5,8	3,8
60 Minuten	7,7	1,4	8,6	1,4	6,4	1,2	7,0	1,2
Entwickelt. O ₂	6,7		7,6		4,4		5,0	
Resttitration	0,4 ccm = 0,8 mg KMnO ₄ H ₂ O ₂				3,0 ccm = 6,0 mg KMnO ₄ H ₂ O ₂			

Versuch XII.

	a		b		a		b	
0 Minuten	1,0		1,0		2,1		2,1	
30 Minuten	6,0	6,0	7,2	6,2	4,7	2,6	6,2	3,1
60 Minuten	7,5	1,5	8,4	1,2	5,6	0,9	6,0	0,8
Entw. O ₂	6,5		7,4		3,5		3,9	
Resttitration	0,5 ccm = 1,0 mg KMnO ₄ H ₂ O ₂				5,0 ccm = 10 mg KMnO ₄ H ₂ O ₂			

Versuch XIII.

	a		b		a		b	
0 Minuten	1,0		1,0		2,0		2,0	
30 Minuten	7,0	6,0	7,6	6,6	5,5	3,5	5,5	3,5
60 Minuten	7,3	0,3	8,9	1,3	5,9	0,4	5,9	0,4
Entw. O ₂	6,3		7,9		3,9		3,9	
Resttitration					4,5 ccm = 9,0 mg KMnO ₄ H ₂ O ₂			

Versuch XIV.

	a		b		a		b	
0 Minuten	1,0	0,0	1,0		2,0		2,0	
30 Minuten	6,4	5,4	7,2	6,2	5,4	3,4	5,2	3,2
60 Minuten	7,1	0,7	8,2	1,0	5,8	0,4	5,7	0,5
Entw. O ₂	6,1		7,2		3,8		3,7	
Resttitration					4,2 ccm KMnO ₄			

Umrechnung zu Versuch 11.

„a“.

I

II

Min.: $5,3 \times 3,03 = 16,05$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $3,2 \times 3,03 = 9,60$
 Min.: $6,7 \times 3,03 = 20,3$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $4,4 \times 3,03 = 13,33$
 nach 30 Min.: $16,05 - 9,60 = 6,45$ mg H_2O_2

demnach Proteasezahl:

nach 60 Min.: $20,3 - 13,33 = 6,97$ mg H_2O_2

„b“.

Min.: $6,2 \times 3,03 = 18,78$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $3,8 \times 3,03 = 11,51$
 Min.: $7,6 \times 3,03 = 23,02$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $5,0 \times 3,03 = 15,15$
 nach 30 Min.: $18,78 - 11,51 = 7,27$ mg H_2O_2

demnach Proteasezahl:

nach 60 Min.: $23,02 - 15,15 = 7,85$ mg H_2O_2

Umrechnung zu Versuch 12.

„a“.

I

II

Min.: $5,0 \times 3,03 = 15,15$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $2,6 \times 3,03 = 7,87$
 Min.: $6,5 \times 3,03 = 19,69$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $3,5 \times 3,03 = 10,60$
 nach 30 Min.: $15,15 - 7,87 = 7,28$ mg H_2O_2

demnach Proteasezahl:

nach 60 Min.: $19,69 - 10,60 = 9,09$ mg H_2O_2

„b“.

Min.: $6,2 \times 3,03 = 18,78$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $3,1 \times 3,03 = 9,3$
 Min.: $7,4 \times 3,03 = 22,42$ mg H_2O_2 (Katalasezahl) $3,9 \times 3,03 = 11,81$
 nach 30 Min.: $18,78 - 9,3 = 9,48$ mg H_2O_2

demnach Proteasezahl:

nach 60 Min.: $22,42 - 11,81 = 10,61$ mg H_2O_2

Interessant ist noch folgende Untersuchung, die ich im Juni 1930
 ellte.

Am 3., 5., 7., 9. 11., 13. und 14. Juni stellte ich nachmittags im-
 um dieselbe Zeit je einen zweifachen Versuch an, und zwar wurde
 cmm Blut, das an den angegebenen Tagen immer frisch entnom-
 wurde, 20 bzw. 40 mg H_2O_2 (1% Lös.) zugegeben. Die Werte für
 freigewordenen Sauerstoff wurden bei den Versuchen mit 20 mg
 H_2O_2 -Zusatz sowohl nach 30, wie nach 60 Min. abgelesen. Bei den
 Versuchen mit 40 mg H_2O_2 -Zusatz wurden nur die in einer Stunde
 erhaltenen Werte notiert.

Ich erhielt folgende Ergebnisse:

Bei 20 mg H_2O_2 - Zusatz.

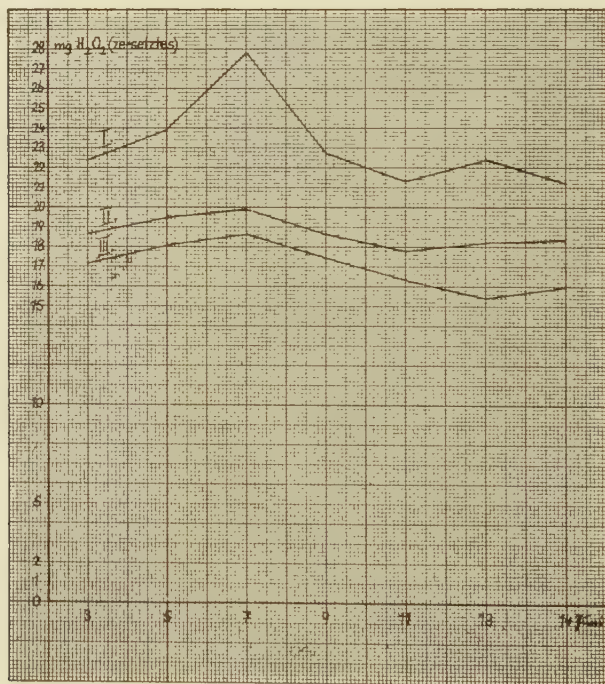
Am	3.	5.	7.	9.	11.	13.	14. Juni
Menge in 30 Min.:	5,7	6,0	6,2	5,8	5,4	5,1	5,2 ccm O_2
abgez. H_2O_2							
0 Min.:	17,27	18,18	18,78	17,57	16,36	15,45	16,05 mg H_2O_2
Menge in 60 Min.:	6,2	6,5	6,6	6,2	5,9	6,0	6,1 ccm O_2
abgez. H_2O_2							
0 Min.:	18,78	19,69	19,99	18,78	17,87	18,18	18,48 mg H_2O_2

Bei 40 mg H_2O_2 -Zusatz.

Am	3.	5.	7.	9.	11.	13.	14. Juni	
O_2 -Mengenach 60 Min.:	7,4	7,9	9,2	7,5	7,1	7,4	7,0	ccm O_2
Zersetztes H_2O_2 in 60 Min.:	22,4	23,93	27,87	22,7	21,5	22,4	21,21	mg H_2O_2

Es sei noch einmal hervorgehoben, daß zu den am gleichen Tage und zur selben Zeit angestellten Versuchen dasselbe Blut (als Blut derselben Blutentnahme) verwandt wurde. Das Blut wirkte den Tag nach auf 20 mg H_2O_2 , und auf 40 mg H_2O_2 am bestimmten Tage mit bestimmter Qualität ein. Zeichnen wir die oben erhaltenen Werte in Gestalt von Kurven auf, so ergibt sich folgendes Bild:

Kurve II.



Die horizontale Koordinate gibt den Tag des Versuchs an, die vertikale die an diesen Tagen freigewordenen Sauerstoffmengen.

Kurve I ist zusammengestellt aus den bei 40 mg H_2O_2 -Zusatz und einstündiger Einwirkungsdauer erhaltenen Werten.

Kurve II aus den bei 20 mg H_2O_2 -Zusatz und einstündiger Einwirkungsdauer erhaltenen Werten.

Kurve III aus den bei 20 mg H_2O_2 -Zusatz und halbstündiger Einwirkungsdauer erhaltenen Werten.

Diese letzte Kurve gibt also die Werte an, wie sie nach der Methode von Bach und Zubkova erzielt worden sind.

Die Kurven zeigen in eindeutiger Weise, daß es nicht möglich bei 20 mg H_2O_2 -Zusatz die jeweilige Qualität, Kraft und Wirkungs- der Katalase zu erfassen, weder bei halbstündiger, noch bei ein- diger Einwirkungsdauer. Die stark gesteigerte Katalasewirkung 7. Juni zum Beispiel kommt nur andeutungsweise zur Geltung. orauf diese stark gesteigerte Wirkung der Katalase meines Blutes diesem Tage beruht, kann ich nicht sagen. Es wäre vielleicht kbar, daß die Sonnenbäder, die ich am 5., 6. und 7. Juni nahm, ür verantwortlich zu machen sind.)

Nach einer Stunde war, wie der Wert (19,99 mg H_2O_2) angibt, das esetzte H_2O_2 vollständig zersetzt. Beachten wir noch, daß, wie ch Versuche festgestellt, die Katalasewirkung gegen Ende der Reak- n bei nur gerade ausreichendem H_2O_2 -Angebot eine Verzögerung idet, so dürfte es gerechtfertigt sein, zu sagen, daß die Versuchs- rdnung nach Bach und Zubkova für eine quantitative und charak- stische Messung der Wirkung der Katalase nicht geeignet ist. Auch auffallende Übereinstimmung ihrer Werte, und derjenigen anderer toren, die nach derselben Methode untersuchten, und das Schwan- n ihrer Katalasezahlen in so engen Grenzen (zwischen 14 und 18), fte in dem Zuwenig an H_2O_2 zu suchen sein. Denn selbst eine alase von stärkerer Kraft kann sich nicht vollständig auswirken, l ihr kein H_2O_2 mehr zur Verfügung steht. Was den Begriff „Pro- se“ angeht, auf deren Wirkung Bach und Zubkova das Abnehmen Katalasewirkung bei höherer Temperatur zurückführen, so müs- wir auf Grund unserer Versuche feststellen, daß es erst noch ein- derer Untersuchungen bedarf, ehe man ihr tatsächliches Vorhan- sein als sicher hinstellen kann. Es ist nach unserer Ansicht sehr hl möglich, daß bei einem gegen äußere Einflüsse so empfindlichen ens, wie es die Katalase nach allem zu sein scheint, der Tempera- wechsel allein genügt, um das Abnehmen der Wirkung zu verur- hen.

Versuch XV.

Lösung 1:1000

	1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm		1 cmm	
dünnungs- flüssigkeit	7 ccm		7 ccm		5 ccm		5 ccm		7 ccm		7 ccm	
O_2 -Lösung	aq. dest.		aq. dest.		aq. dest.		aq. dest.		aq. dest.		aq. dest.	
	2 ccm 1‰		2 ccm 1‰		4 ccm 1‰		4 ccm 1‰		2 ccm 3‰		2 ccm 3‰	
Minuten	2,2		2,2		4,2		4,2		2,2		2,2	
Minuten	3,6	1,4	3,4	1,2	6,7	2,5	7,0	2,8	4,6	2,4	4,6	2,4
Minuten	6,0	2,4	5,3	1,9	10,0	3,3	10,2	3,2	7,9	3,3	8,2	3,6
Minuten	7,4	1,4	6,4	1,1	12,0	2,0	12,0	1,8	9,9	2,0	10,0	1,8
Minuten	8,3	0,9	7,3	0,9	13,0	1,0	13,2	1,2	11,2	1,3	11,4	1,4
Minuten	8,8	0,5	7,8	0,5	13,4	0,4	13,7	0,5	11,8	0,6	12,2	0,8
Minuten	9,0	0,2	8,0	0,2	13,9	0,5	14,0	0,3	12,3	0,4	12,6	0,4
	6,8		5,8		9,7		9,8		10,0		10,4	
0 Minuten	5,2 ccm		4,2 ccm		7,8 ccm		7,8 ccm		7,7 ccm		7,8 ccm	
0 Minuten	6,8 ccm		5,8 ccm		9,7 ccm		9,8 ccm		10,0 ccm		10,4 ccm	

Versuch 15 bekräftigt noch einmal, daß ein Zusatz von 20 mg O_2 zu 1 cmm Blut nicht ausreichend ist. Gleichzeitig läßt der Ver- h erkennen, daß es gleichgültig ist, ob man das H_2O_2 in einer 1‰-

oder 3%-Lösung zusetzt. Eine noch höhere Konzentration zu wählen, ist, wie wir aus den Versuchen von Pleßner wissen, nicht ratsam, da dann die Versuchsdauer wesentlich verlängert werden muß.

Beim Schluß meiner Untersuchungen kam mir noch eine Mitteilung von Alexeev (1930) zur Kenntnis. Auch dieser Autor hält die Untersuchungsanordnung für die Katalasewirkung von Bach und Zubkowa für ungeeignet, da bei ihr der H_2O_2 -Zusatz nicht ausreicht, um in jedem Falle die Wirkung von 1 cmm Blut zu erfassen.

Zusammenfassung.

Bei meinen Untersuchungen fand ich:

1. Bei gerade ausreichender H_2O_2 -Menge für ein bestimmtes Blut quantum, tritt gegen Ende der Reaktion eine Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit ein.

2. Einem Kubikmillimeter Blut des Menschen müssen mindestens 40 mg H_2O_2 zugesetzt werden, um eine annähernd vollständige Zersetzung zu erzielen.

3. Die doppelte Menge Blut zersetzt die doppelte Menge H_2O_2 .

Eine vielfache Menge Blut zersetzt eine vielfache Menge H_2O_2 , allerdings muß die Einwirkungszeit entsprechend verlängert werden.

4. Eine Versuchsdauer von 1 Stunde ist bei Verwendung von 1 cmm Blut und reichlich H_2O_2 ausreichend.

5. 1% bis 3% H_2O_2 -Lösungen können gleichgut verwandt werden.

6. Bach und Zubkowa verwenden bei ihren Untersuchungen zu wenig H_2O_2 , ihre Werte sind daher zu klein. Ebenso ist ihre Versuchsdauer zu kurz.

7. 1 cmm Blut zersetzt im Mittel 25 mg H_2O_2 bei Wahrung der für die Katalasemessung günstigsten Bedingungen.

Die Ermittlung endgültiger Fermentzahlen erfordert öfter unzählreiche Untersuchungen, da nur bei einem großen Versuchsmaterial wahre Mittelwerte zu erhalten sind. Vergleichbare Resultate werden jedoch nur dann erzielt, wenn die Methodik der Katalasemessung bei allen Untersuchern die gleiche ist.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme und ehrenvolle Pflicht, Herrn Professor Dr. Koeppe für die lebenswürdige Unterstützung bei der Abfassung derselben meinen herzlichsten und ergebensten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen (1903).
- Bredig: Anorganische Fermente, Leipzig (1901).
- Enter: Das H_2O_2 zersetzende Enzym des Blutes. Ztschr. f. physikal. Chemie (1903).
- Sach-Chodat: Biochem. Zentralblatt I. Nor. 11/12 (1903).
- Neumann-Wender: Enzymologische Studien. Beiträge zur Kenntnis der oxydierenden Enzyme (1904).
- Volles-Oppenheim: Beiträge zur Kenntnis der Blutfermente. Virchows Archiv für path. Anat. u. Physiol. u. klin. Med. Bd. 180 (1903).
- Volles: Katalysatoren vom physiol. chemisch. Standpunkte. Wiener Med. Wochenschrift. Nr. 12—14 (1905).
- Schellhase: Über die Katalase der Milch. Inaugural-Diss. Gießen (1906).
- Dalmady u. v. Torday: Die Zersetzung des H_2O_2 durch Blut. Wien. klin. Wochenschrift. Nr. 16 (1907).
- Matelli u. Stern: Die Katalase. Ergebnisse der Physiologie. Bd. 10 (1910).
- Bach: Die langsame Verbrennung und die Oxydationsfermente. Fortschr. der naturw. Forschung I (1910).
- Baderhalden: Neuere Anschauungen über den Bau und den Stoffwechsel der Zelle (1916).
- Sach u. Zubkova: Über die Fermentzahlen des Blutes. Biochem. Zeitschrift. Bd. 125 u. 145 (1921).
- Verhechte: Über die Katalase des Blutes. Inaugural-Diss. Gießen (1921).
- Leyse: Über die Messung der Katalase des Blutes. Inaugural-Diss. Gießen (1922).
- Sischoff: Über die katalytische Wirkung des Blutes mit besonderer Berücksichtigung des Kindesalters. Archiv f. Kinderheilkunde. Bd. 82 (1927).
- Moltzov: Beitrag zur Katalasebestimmung. Berichte über die gesamte Physiologie (1928).
- Schmidt: Über die Katalase des Blutes. Inaugural-Diss. Gießen (1928).
- Post: Zur Methodik der Bestimmung der Blutkatalase. Inaugural-Dissertation Gießen (1929).
- Leßner: Über die Abhängigkeit der Wirkung der Blutkatalase von der Konz. der dabei verwendeten H_2O_2 lös. Inaugural-Diss. Gießen (1929).
- Linze: Abhängigkeit der Katalasewirkung des Blutes von der Temperatur. Leoppe: U. V. Strahlen und Katalase. Sonderdruck aus Archiv f. Kinderheilkunde (1930).
- Ingold: Hämolyse, Blutfarbstoffumbau, Blutfarbstoffzerstörung und Blutfarbstoffschutz. Folia Hamatologica. 42. Bd. Heft 2 (1930).
- Lexeev: Beitrag zur Katalasebestimmung. Berichte über die gesamte Physiologie. Bd. 52 (1930).

Lebenslauf.

Ich, Rudolf Müller, bin am 10. März 1905 zu Lank a. Rh. geboren. Vom 6.—10. Lebensjahre besuchte ich die Volksschule. Dann trat ich in das Progymnasium zu Würselen ein und blieb dort bis zum 13. Lebensjahr. Vom 13. bis 19. Lebensjahr besuchte ich die Hindenburgschule, Abt. Realgymnasium, zu Aachen und im März 1925 legte ich dort die Reifeprüfung ab. Im W. S. 1925/26 begann ich mein Medizinstudium in München, wo ich zwei Semester blieb. W. S. 1926/27 bis 1930/31 studierte ich ausschließlich in Gießen. Ende W. S. 1927 bestand ich hier mein ärztliches Vorexamen und am 19. Dezember 1930 beendigte ich mein Staatsexamen ebenfalls in Gießen.